Sekretionsmuster von ovariellem Ocytocin im Zyklus und nach Hysterektomie sowie Versuche zum Einfluß von Ocytocin-Antikörpern auf den Zyklus beim Rind

Hansjörg Breitinger

Diss
München
1985

Aus dem Institut für Physiologie der
Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für
Milchwirtschaft Weihenstephan
der Technischen Universität München
Direktor: Professor Dr. Heinrich Karg
vorgelegt über das Institut für Physiologie,
Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Sekretionsmuster von ovariellem Ocytocin im Zyklus und nach Hysterektomie sowie Versuche zum Einfluß von Ocytocin-Antikörpern auf den Zyklus beim Rind

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität München

von
Hansjörg Breitinger
aus
Bühlenhausen

München 1984

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. W. Leidl

Referent: Prof. Dr. U. Lösch

Korreferent: Prof. Dr. M. Rüsse

Tag der Promotion: 27. Juli 1984

Druck: Dissertationsdruck Novotny jr., 8135 Söcking/Starnberg

Inhalt

Sekretionsmuster von ovariellem Ocytocin im Zyklus und nach Hysterektomie sowie Versuche zum Einfluß von Ocytocin-Antikörpern auf den Zyklus beim Rind

1.	Literatur	1
1.1.	Allgemeines	1
1.1.1.	Zur Geschichte und Darstellung des Ocytocins	1
1.1.2.	Struktur und chemische Eigenschaften	2
1.1.3.	Synthese und Speicherung im Hypothalamus-Hypophysenhinterlappen-System	3
1.1.4.	Freisetzung und Hemmung	6
1.1.5.	Halbwertszeit und Ausscheidung	7
1.2.	Physiologische Wirkungen von Ocytocin	9
1.2.1.	Bindung und Wirkung am Rezeptor	9
1.2.2.	Wirkung auf die Milchdrüse	10
1.2.3.	Wirkung im Genitaltrakt und bei der Geburt	10
1.2.4.	Ocytocin im Zyklusgeschehen	11
1.2.4.1.	Zusammenhang von Zykluslänge und exogenem Ocytocin	11
1.2.4.2.	Immunisierungen gegen Ocytocin und Zykluslänge	13
1.2.4.3.	Steroide und Ocytocin	14
1.2.4.4.	Interaktionen zwischen Ocytocin und Prostaglandinen	15
1.2.4.5.	Ocytocin als Ovarhormon	17

2.	Methoden und Material	20
2.1.	Probengewinnung	20
2.1.1.	Katheterimplantation	20
2.1.2.	Entnahme und Behandlung der Proben	21
2.2.	Hormonanalytische Verfahren	22
2.2.1.	Radioimmuntest für Ocytocin	22
2.2.1.1.	Extraktion des Ocytocin aus dem Blutplasma	22
2.2.1.1.1.	Kartuschenextraktion	22
2.2.1.1.2.	Acetonextraktion	23
2.2.1.2.	Analysengang	24
2.2.2.	Progesteronbestimmung	25
2.2.3.	Östradiol-17-ß-Bestimmung	26
2.2.4.	Prostaglandine	26
2.3.	Versuchspläne	27
2.3.1.	Versuch 1: Ocytocin und Prostaglandine im Zyklus ("Ocy-PG")	27
2.3.1.1.	Tiermaterial	27
2.3.1.2.	Versuchsbeschreibung	29
2.3.2.	Versuch 2: Hysterektomie post partum ("Hyst.p.p.")	30
2.3.2.1.	Tiere	30
2.3.2.2.	Operationsbescheibung	30
2.3.2.3.	Versuchseinteilung	32
2.3.3.	Versuch3: Spezifische Antikörper gegen Ocytocin ("Ocy-AK")	32
2.3.3.1.	Tiere	32
2.3.3.2.	Versuchsbeschreibung	33

2.3.3.3.	Gewinnung spezifischer Antikörper gegen Ocytocin	34
2.3.4.	Zusätzliche Tastversuche über mögliche Interaktionen von Ocytocin mit anderen Hormonen	36
2.3.4.1.	Prostaglandinanaloga, verabreicht an weibliche Kastraten	36
2.3.4.2.	Ocytocin-Injektionen an bestimmten Zyklustagen	37
2.3.4.3.	Wirkung von FSH während der Lutealphase auf die Ocytocinsekretion	38
2.3.4.4.	Wirkung von HCG während der Lutealphase auf die Ocytocinsekretion	39
2.3.4.5.	Effekte von exogenem $PGF_{2\alpha}$ bei Corpus luteum persistens nach Hysterektomie	39
2.4.	Verwendete Reagenzien, Medikamente und Geräte	40
3.	Ergebnisse	42
3.1.	Ergebnisse des Versuchs "Ocy-PG" im Zyklus	42
3.1.1.	Probennahmen in dreistündigem Abstand	42
3.1.2.	Blutentnahmen in frequenten Serien	50
3.2.	Ergebnisse des Versuchs: Hysterektomie post partum	58
3.2.1.	Kontrolltiere im 1. Zyklus post partum	58
3.2.2.	Ocytocin während der Post-Partum-Phase	62
3.2.3.	Auswirkung der Hysterektomie	64

3.3.	Ergebnisse des Versuchs mit spezifischen Antikörpern gegen Ocytoicn	68
3.4.	Interaktionen und Effekte von verschiedenen Hormonapplikationen	80
3.4.1.	Effekte von Cloprostenol bei weiblichen Kastraten	80
3.4.2.	Reaktion auf Ocytocininjektionen an bestimmten Zyklustagen	82
3.4.3.	Wirkung der Infusion eines FHS-Präparates am Zyklustag 7	91
3.4.4.	Auswirkungen einer HCG-Injektion	91
3.4.5.	Wirkungen von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ bei einem Corpus luteum persistens nach Hysterektomie	94
4.	Diskussion	96
4.1.	Diskussion der Methode	96
4.2.	Diskussion der Ergebnisse	99
5.	Zusammenfassung	105
6.	Literatur	109

1. Literatur

1.1. Allgemeines

1.1.1.Zur Geschichte des Ocytocins*

Vor der Jahrhundertwende entdeckten OLIVER und SCHÄFER (1895) die blutdrucksteigernde Wirkung von Extrakten aus dem Hypophysenhinterlappen (HHL). DALE (1906) beschrieb den stimulierenden Effekt dieser Extrakte auf den Uterus von Katzen. Diese Wirkung konnte er (DALE 1909) drei Jahre später bei in-vitro und in-vivo Experimenten mit Hunden und kleinen Nagetieren beweisen. Zur gleichen Zeit bestätigten OTT und SCOTT (1909) sowie FRANKL-HOCHWART und FRÖHLICH (1909) die blutdrucksteigernde sowie uteruskontrahierende Wirkung bei intravenöser Verabreichung von neurohypophysären Extrakten. Letztere nannten diese Extrakte "Pituitrin". OTT und SCOTT (1910) beschrieben auch als erste die Wirkung von HHL- Extrakten nach intravenöser Verabreichung auf die Milchejektion bei Ziegen.

Klinische Anwendung erfuhren die HHL- Extrakte durch BELL (1909) und durch BELL und HICK (1909) in der humanmedizinischen Geburtshilfe bei der Sectio caesarea. Diese Indikation wurde von FOGES und HOFSTÄTTER (1910) auf die Therapie von post partum Blutungen und von HOFBAUER (1911) auf die Einführung als Wehenmittel ausgedehnt. Die relativ starken Nebenwirkungen, die durch Überdosierung und vor allem durch den vasopressorischen Anteil in diesen Extrakten hervorgerufen wurden, konnten erst verringert werden, als KAMM et al. (1928) eine partielle Auftrennung in einen ocytocischen, sowie in einen vasopressorischen Anteil

*Der Name Ocytocin leitet sich aus dem griechischen OKYTOKOS = schnell gebärend ab. Die Schreibweise "Ocytocin" erfolgt auf Empfehlung der IUPAC- IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1975) wie sie auch KARLSON (1980) verwendet.

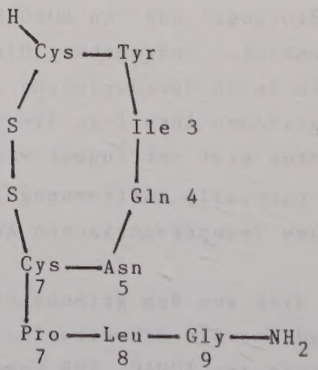
gelang.
Nachdem THORPE (1926) vermutete, daß es sich bei den ocytocisch wirksamen Substanzen um Peptide handelt, und STEHLE und FRASER (1935) Aminosäuren als Bausteine nachweisen konnten, gelang LIVERMORE und DU VIGNEAUD (1949) die Darstellung von Oxytocin aus HHL- Gewebe.

DU VIGNEAUD et al. (1953) und TUPPY (1953) gelang unabhängig voneinander die Aufklärung der chemischen Struktur des Ocytocins. Nachdem DU VIGNEAUD et al. (1954) im folgenden Jahr die Synthese des Ocytocins als erstem Peptidhormon gelang, erhielt er hierfür den Nobelpreis.

Das erste Verfahren zur industriellen Ocytocin-Synthese entwickelten BOISSONNAS et al. (1955).

1.1.2. Struktur und chemische Eigenschaften

Die Formel für Ocytocin ist hier in Kurzschreibweise wiedergegeben.



Durch das Vorkommen von Cystin, dessen eine Aminogruppe endständig ist, hat dieses Nona-Peptid über eine Di-Sulfidbrücke Ringstruktur (KARLSON 1980).

Ocytocin besitzt ein Molekulargewicht von 1007, der isoelektrische Punkt liegt bei pH 7,7 (BUDDECKE 1977). Bei guter Wasserlöslichkeit ist Ocytocin im Bereich von pH 3,0 am stabilsten (ADAMSON et al. 1958).

Ocytocin ist bei allen Säugetieren und Vögeln identisch (ACHER 1962). Im Gegensatz dazu unterscheidet sich Vasopressin, das bisher nur bei Säugern gefunden wurde, als Lysin-Vasopressin beim Schwein und Nilpferd vom Arginin-Vasopressin der übrigen Tiere (LEDERIS 1961).

Für die biologische Ocytocin-Wirkung ist der Asparaginrest in Position 5 und der Glycerinrest in Position 9 essentiell.

Neben den bisher acht bekannten Peptiden mit ocytocischer bzw. vasopressorischer Wirkung - als Beispiel sei hier nur Vasotocin erwähnt, das in Position 3 Ile (wie Ocytocin) und in Position 8 Arg (wie Vasopressin) enthält - wurden mehrere synthetische Ocytocinanaloga dargestellt. Ihre Aktivität beruht entweder auf einer Ocytocin-Wirkung (SMITH 1967) oder sie hemmen Ocytocin kompetitiv am Rezeptor (CHAN et al. 1974).

1.1.3. Synthese und Speicherung im Hypothalamus-Hypophysenhinterlappen-System

Früher wurden die Pituizyten, das sind mehr oder weniger plasmareiche Gliazellen, die den größten Teil der Zellen des HHL ausmachen, als Bildungsstätten für Ocytocin angesehen. SCHARRER und SCHARRER (1954) sowie BARGMANN (1957) konnten die Nervenzellen in bestimmten Kerngebieten des Hypothalamus als Bildungsorte identifizieren.

Die Beziehung zwischen Hypophyse und Hypothalamus läßt sich aus den anatomischen Gegebenheiten ableiten. Die Hypophyse besteht aus zwei, sowohl ihrem Bau als auch ihrer Entwicklung nach verschiedenen Teilen:
1. Dem epithelialen Drüsenteil, der Adenohypophyse mit der Pars infundibularis, der Pars intermedia und der Pars distalis, die sich aus dem Ektoderm der Mundbucht (Rathkesche Tasche) entwickelt haben und
2. dem hinteren Hirnteil, der Neurohypophyse, die sich in Hypophysenstiel und dem Hypophysenhinterlappen gliedert. Dieser Teil der Hypophyse wird aus dem Neuroektoderm des Zwischenhirns entwickelt (KNOCHE,1979).
Der Hypophysenhinterlappen setzt sich also aus Geflechten markloser Nervenfasern aus hypothalamischen Kerngebieten, den Nuclei supraopticus und paraventricularis, und Pituicyten, die sich vom Gliagewebe ableiten, zusammmen.
BARGMANN (1949) lieferte mit einer modifizierten GOMORI-Färbung die ersten Hinweise auf eine neuronale Hormonsynthese.
Die Hypothese, daß Ocytocin und Vasopressin in den multipolaren Nervenzellen des Nucl.supraopticus und Nucl.paraventricularis neurosekretorisch gebildet wird und intraaxonal in den HHL geleitet wird, findet allgemein Anerkennung (SAWYER,1961). Mit der GOMORI - Färbung konnte BARGMANN (1957) die Neurosekrettropfen im Axon als perlschnurartige Nervenfaseranschwellung darstelllen. Diese Sekrettröpfchen, als sogenannte "dense-core"-Vesikel,bestehen aus dem Peptidhormon, dem Trägerprotein und einer Membran.Sie haben einen Durchmesser von 1 200 - 3 000 Å (BARGMANN 1958).
OLIVECRONA (1957) stellte nach Zerstörung des Nucleus paraventricularis eine Verminderung des Ocytocingehaltes im HHL fest. Weitere Beobachtungen bei Ratten mit erblich bedingtem bzw. durch Zerstörung des Nucleus supraopticus erzeugtem Diabetes insipidus (VALTIN ,1967,VALTIN et al.

1965, SOKOL und VALTIN, 1967) führten zu der Theorie, daß der Nucleus paraventricularis vor allem Ocytocin, der Nucleus supraopticus Vasopressin synthetisiert (AULSE-BROOK und HOLLAND 1969, BISSET et al. 1967).
WAKERLEY und LINCOLN (1973) fanden bei der Ratte, daß jeweils die Hälfte der Neuronen in beiden Nuclei zur Ocytocinfreisetzung aktiv sind. Mit einer radioimmunologischen Bestimmung wiesen GEORGE et al. (1976) Ocytocin zu gleichen Teilen in beiden Kerngebieten nach, am meisten fanden sie jedoch in der Eminentia mediana. Das deutet darauf hin, daß die Eminentia madiana den Haupttransportweg darstellt.

Histologisch konnte RECHART (1969) bei Ratten zwischen "dunklen" Vasopressin poduzierenden Zellen und "hellen" Ocytocin bildenden Zellen unterscheiden. BINDLER et al. (1967) bestätigte diese Ein-Zell-einHormon-Hypothese. ZIMMERMANN et al. (1973) und VANDESANDE und DIERICKX (1975) belegen durch immuncytochemische Untersuchungen bei der Ratte diese Hypothese.
Nachdem LEDERIS (1961) beim Schaf beide Hormone im Nucl. supraopticus sowie im Nucl. paraventricularis fand, konnten ZIMMERMANN et al. (1974) das auch für das Rind bestätigen. Die Ocytocinsynthese verläuft wahrscheinlich ähnlich wie die des Vasopressin. Sie soll im endoplasmatischen Retikulum mit einem hochentwickelten Golgi-Apparat und reichlich Ergastoplasma der Neuronen stattfinden.

Dieses in den Ribosomen gebildete Neurosekret besteht aus dem Hormon und einem Tägerprotein in Form eines inaktiven Precursormoleküls mit einem Molekulargewicht von etwa 20 000 (HOLLENBERG 1968).
Im Golgi-Apparat erfahren diese Granula eine Umhüllung mit einer Membran.

In dieser Form, zunächst nach ihrem Entdecker VAN-DYKE-Proteine genannt , wandern diese Granula entlang der Axone zum HHL (RAISMAN 1973). Hier werden die Granula in den HERRING-Körperchen und im Ende der Axone am Blutgefäßsystem gespeichert.
Diese Trägerproteine wurden 1968 von HOLLENBERG als Neurophysin (NP) I und II bezeichnet.Die Unterscheidung wird auch von ROBINSON (1971) und LEGROS (1978) bestätigt. UTTENTHAL und HOPE (1970) fanden beim Schwein ebenso drei Neurophysine wie MOORE und WATKINS (1979) beim Schaf. DAX und JOHNSTONE (1978) sehen im NP III des Schweins eine Nebenform des NP I.
Beim Rind fanden ZIMMERMANN et al. (1974) enge Beziehungen zwischen NP I und Ocytocin sowie NP II und Vasopressin. VANDESANDE et al. (1974) zeigten hohe Vasopressin-Konzentrationen in NP II produzierenden Neuronen und hohe Ocytocinspiegel in NP I-Neuronen. LEGROS et al. konnten nach Ocytocinfreisetzung (1974) sowie nach Vasopressinfreisetzung (1975) einen Anstieg des zugeordneten NP zeigen.

1.1.4. Freisetzung und Hemmung

Nach LINCOLN und PAISLEY (1982) sind nur die membrannahen Terminalen zu einer Freisetzung in der Lage. Die Freisetzung ist ein zellulärer Prozeß, der nach DOUGLAS (1963) durch Impulse aus den Nuclei supraopticus und und paraventricularis verursacht wird.
Aktionspotentiale aus der Neuronenzelle bewirken in den Speicherterminals der Axone eine Membrandepolarisation mit Ca-Ionen-Influx (DREIFUSS et al. 1981).
Auf dem Weg einer Exocytose werden Hormon und Proteinkomplex in den extrazellulären Raum abgegeben (DREIFUSS et al. 1973).
Die Reizleitung von dem Neuronenzellkörper über das Axon mit anschließender Hormonfreisetzung stellt die efferente Bahn des sogenannten neuro-endokrinen Reflexbogens dar.

Der afferente Teil beginnt mit Reizen an sensiblen Nervenendigungen der Milchdrüse bzw. der Genitalorgane, die als Impulse über die Nervenbahnen zum Rückenmark führen und von hier zu Hypothalamus gelangen.

Katecholamine sowie endogene Opiate führen zu einer Hemmung der Ocytocin-Freisetzung. Von ROSSIER et al. (1979) und CLARKE et al. (1979) werden hemmende Effekte von endogenen Opiaten auf der Ocytocin-Freisetzung beschrieben. BICKNELL und LENG (1982) beschreiben für Ocytocin, nicht aber für Vasopressin, eine durch endogene Opiate regulierte Freisetzung aus der Neurohypophyse.
Die hemmende Wirkung der Katecholamine dürfte vor allem auf ihrer vasokonstriktorischen Wirkung beruhen. So verhindert "Stress" den Milchejektionsreflex und Adrenalin verhindert über Stimulation der ß-Rezeptoren im Myometrium Kontraktionen (RÜSSE, 1979).
Von den pharmakologischen Substanzen wird Äthanol eine hemmende Potenz auf die Ocytocinaktivität bei Frauen zugeschrieben(FUCHS et al. 1963, WAGNER und FUCHS,1968, COBO, 1973).

1.1.5. Halbwertszeit (HWZ) und Ausscheidung

Die Ausscheidungvon Ocytocin erfolgt nach der Freisetzung in die Blutbahn relativ schnell. BAUMANN (1980) stellte Daten von verschiedenen Spezies zusammen. Demnach beträgt die HWZ bei Schaf und Ziege weniger als 1 min, bei der Katze dagegen über 8 min.
Bei kontinuierlicher intravenöser Infusion von Ocytocin konnten SCHAMS et al. (1979a)einen konzentrationsabhängigen biphasischen Abfall feststellen.Intaktes Ocytocin wird nur in sehr geringen Mengen über den Harn ausgeschieden.

So waren bei Ratten, die mit markiertem Ocytocin behandelt waren, nur 14% im Urin nachweisbar (AROSKAR et al. 1964, IMBERT et al. 1970, WALTER und SHLANK 1972).

Abgebaut wird Ocytocin vor allem in der Niere (KOIDA et al. 1971) sowie Milz und Leber.Der Abbau erfolgt enzymatisch, wobei vor allem unspezifische Aminopeptidasen eine Rolle spielen (SAWYER, 1961). WALTER und SHLANK (1975) beschreiben ein spezifisches chymotrypsinartiges Enzym. Als erste spezifische Ocytocinase wurde von FEKETE (1930) eine Aminopeptidase im Serum schwangerer Frauen beschrieben.

1.2. Physiologische Wirkungen von Ocytocin

1.2.1. Bindung und Wirkung am Rezeptor

Nach der Freisetzung in den exrazellulären Raum gelangt das Ocytocin über Kapillaren in die Blutbahn. Eine spezifische Bindung im Plasma konnte noch nicht endgültig bewiesen werden, auch wenn HELLER (1957) bei Ratten nach exogen zugeführtem Ocytocin eine 40-60 %ige Bindung an eine Plasmafraktion nachweisen konnte.
FABIAN (1970) und FABIAN et al. (1969) konnten bei Hunden und beim Menschen keine Bindung an eine Plasmafraktion feststellen.

Inwieweit eine bestimmte Zelle überhaupt auf einen hormonellen Stimulus reagieren kann, hängt davon ab, ob sie Rezeptoren besitzt, um die im Blut vorhandenen Hormonmoleküle spezifisch zu binden (WEISS et al 1975).
Für Ocytocin konnten CRANKSHAW et al. (1978) zellmembranständige Rezeptoren auf der glatten Muskelzelle lokalisieren. In der Milchdrüse soll die Anzahl der Rezeptoren über die gesamte Laktaktion etwa konstant sein, im Myometrium dagegen ist sie in der Östrogenphase deutlich höher als während der Progesterondominanz (SOLOFF, 1979, NISSENSON et al. 1978). Je spezifischer eine Hormon-Rezeptorbindung ist, umso genauer müßen Hormon und Rezeptor zueinander passen. Die Hormonwirkung erfolgt wahrscheinlich über eine Wechselwirkung mit der Zellmembran, auch wenn die Abläufe im einzelnen noch nicht genau bekannt sind.
Für die Bindung von Ocytocin-Rezeptor sollen Zink-und Magnesium Ionen katalysatorische Wirkung haben, Kalzium dagegen nicht (SOLOFF, 1982).
Die Bindung des Hormons an die Zellmembran führt über Beeinflussung der Transportgeschwindigkeit für bestimmte Stoffe oder über eine Einwirkung auf ebenfalls membrangebundene Enzymsysteme mittelbar zu Geschwindigkeitsänderungen

von Stoffwechselwegen innerhalb der Zelle (WEISS et al. 1975).
BREMEL und SHAW (1978) sehen in der Phosphorylierung und Dephosphorylierung des Myosins in der glatten Muskulatur mit deren Kontraktion bzw. Relaxation Parallelen zur Ocytocinwirkung.

1.2.2. Wirkung auf die Milchdrüse

In der Milchdrüse des Rindes bewirkt Ocytocin, daß die kontinuierlich gebildete Milch, die in den Sammelgängen und Alveolen "gestapelt" wird, aus den Alveolen in die Drüsenzisterne gedrückt wird (ZEROBIN 1976). Melk-bzw. Saugreiz lösen über sensible Tastkörperchen Impulse aus, die über Rückenmark und Hypothalamus Ocytocin aus dem Hypophysenhinterlappen freisetzen, das durch Kontraktion des Myoepithels die Milchejektion bewirkt.

1.2.3. Wirkung im Genitaltrakt und bei der Geburt

Taktile Reize spielen auch bei der Kontraktion des Uterus während der Geburt eine Rolle.Sobald während der Austreibungsphase die Frucht im Zervikalkanal (FERGUSON 1941) über einen Dehnungsreiz bzw. über Stimulation der sensiblen Nervenendigungen reflektorisch Ocytocin ausschüttet, kommt es zu einer Kontraktion der Myometriumzellen. PATIL et al. (1979) konnten eine Abhängigkeit zwischen der Hormondosis und dem Tonus sowie der Frequenz der Kontraktionen nachweisen.
Die höchsten Ocytocinwerte konnten während der Austreibungsphase gemessen werden (FITZPATRICK und WAMSLEY,1965, VAN DONGEN und HAYS, 1966, SCHAMS und PROKOPP, 1979).

Hieraus kann abgeleitet werden, daß Ocytocin für das Ingangkommen der Geburt keine Bedeutung hat, wohl aber in der Austreibungsphase (LANDGRAF et al. 1983). Der Genitaltrakt ist aber nicht nur während der Geburt in der Lage, auf taktile Reize mit Ocytocinausschüttung zu reagieren. BAUMANN (1980) konnte durch manuelle Stimualtion der Genitalorgane eine Ocytocinfreisetzung erreichen, wobei er keine Zyklusabhängigkeit feststellte.

1.2.4. Ocytocin im Zyklusgeschehen

1.2.4.1. Zusammenhang von Zykluslänge und exogenem Ocytocin

Erstmals stellten ARMSTRONG und HANSEL (1959) eine Wirkung von Ocytocin auf den Zyklus fest.
Sie konnten bei Rindern eine Zyklusverkürzung auf 8 bis 12 Tage erreichen, indem sie nach der Ovulation eine Woche lang Ocytocin injizierten.Diese Zyklusverkürzung tritt nur auf, wenn Ocytocin vom 3. bis 6. Zyklustag verabreicht wird, nicht aber in den ersten 3 Tagen (HANSEL,1959).
Es gelingt ebenfalls nicht, wenn Ocytocin an den Tagen 7 bis 13 oder 15 bis 22 verabreicht wird (HANSEL und WAGNER, 1960).
Auch mit Ocytocinmengen (400 I.U.), die physiologische Konzentrationen erheblich übersteigen, konnten, an den Tagen 0 bis 4 verabreicht, keine Zyklusverkürzung erreicht werden (CAMEROUN und FOSGATE, 1964).
Bei subkutaner Verabreichung von täglich 100 I.U. Ocytocin an den Zyklustagen 3 bis 6 konnten AULETTA et al. (1972) den Zyklus auf 8,7 Tage verkürzen. Diesen Effekt konnten sie mit Noradrenalin aufheben. Zu den gleichen Ergebnissen kamen BLACK und DUBY (1965) mit Adrenalin und Atropin.
Die Progesteronprofile zeigen bei diesen Versuchen bis Tag 5 einen physiologischen Verlauf, danach kommt es aber zu einem Absinken der Progesteronwerte (DONALDSON et al.

1970) mit anschließendem LH-Gipfel und Oestrus (MILVAE und HANSEL, 1980). In einem so erzeugten Oestrus durchgeführte Besamungen führten zu normalen Trächtigkeiten (HOPPE et al. 1969).

Die zyklusverkürzende Wirkung von Ocytocin konnten HARMS und MALVEN (1969) durch gleichzeitige Progesterongabe nicht verhindern.Sie stellten aber einen noch stärkeren Effekt fest. So waren das Gewicht der Corpora lutea,deren Progesterongehalt und deren Progesteronkonzentration bei der kombinierten Behandlung noch geringer als mit Ocytocin allein. Eine tägliche Ocytocingabe führt zu kleineren Corpora lutea (ARMSTRONG und HANSEL,1959) mit deutlich geringerem Progesterongehalt (LHABETSWAR et al. 1964). Eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Ocytocindosis sowie dem Corpus luteum Gewicht, dem Progesterongehalt und der Progesteronkonzentration konnten DONALDSON und TAKKEN (1968) finden. SIMONS und HANSEL (1964) fanden histologisch in den Lutealzellen solcher Corpora lutea Vakuolen und pyknotische Kerne.
Die Verkleinerung betrafen nicht nur das Corpus luteum, sondern auch die Ovarien (STAPLES et al. 1961). Diese Autoren fanden auch zystöse Corpora lutea. Das deckt sich mit den Ergebnissen von DONALDSON (1969), der daüber hinaus bei mehreren, mit Ocytocingaben verkürzten Zyklen, epitheliale Zysten in den Fimbrien des Infundibulum tubae, sowie in der Uterusmukosa fand.
Dieser zyklusverkürzende Effekt von Ocytocingaben an den Tagen 3 bis 7 trat nicht auf, wenn die Tiere vollständig hysterektomiert bzw. das ipsilaterale Uterushorn zum Gelbkörper entfernt wurde (GINTHER et al. 1967, BRUNNER et al. 1969). Es kam in diesen Fällen zu einer Zyklusverlängerung mit einem Corpus luteum persistens, das nach 150 Tagen noch vorhanden war (ANDERSON et al. 1965). Befindet sich das Corpus luteum auf der gleichen Seite wie das belassene

Uterushorn, so kommt es zur Luteolyse (CARLSON und BLACK, 1969).
Eine Durchtrennung des gleichseitigen Ligamentum latum uteri führt ebenfalls zu einer Verlängerung der Gelbkörperfunktion (HIXON und HANSEL, 1974).
Bei Schafen konnte während der Fortpflanzungssaison mit 50 I.U. Ocytocin, verabreicht an den Tagen 3 bis 5, ebenfalls eine Zyklusverkürzung erzeugt werden (DOBROWOLSKI, 1973). Daß diese Verkürzung von einem belassenen Uterushorn bzw. von einem intakten Endometrium abhängig ist, konnten HATJIMINAOGLOU et al. (1979) nachweisen, die bei Schafen, die am 2. Zyklustag intrauterin eine Phenollösung erhielten, keine Zyklusverkürzung fanden.
Exogen verabreichtes Ocytocin führt auch bei der Ziege zu einer Zyklusverkürzung, die durch gleichzeitige orale Gabe eines Prostaglandin-Synthetase-Inhibitors verhindert werden kann (COOKE und KNIFTON, 1981,COOKE und HOMEIDA; 1982).
Bei anderen Haussäugetieren konnte eine Veränderung der Zyklusdauer nicht erreicht werden. Versucht wurde dies beim Schwein (RIGOR und CLEMENTE, 1964) und Pferd (NEELY et al. 1979).

1.2.4.2. Immunisierungen gegen Ocytocin

Konnte früher schon die zyklusverkürzende Eigenschaft von exogenem Ocytocin, an bestimmten Tagen verabreicht, nachgewiesen werden, so gelang es SHELDRICK et al. 1980 den Oestrus bei Schafen nach aktiver Immunisierung gegen Ocytocin um 3 bis 7 Tage zu verschieben.
Durch aktive und passive Immunisierung von Schafen gegen Ocytocin konnten SCHAMS et al.(1983a)bei einem Teil der Tiere eine deutliche Zyklusverlängerung erreichen.Bei den Tieren mit verlängertem Zyklus waren die Konzentrationen von freiem Ocytocin geringer als bei denen, die nicht

reagierten.
In einem weiteren Versuch konnten ROCA et al. (1978) bei Kaninchen die Ovulationsrate durch eine Ocytocinantiserum-Behandlung auf etwa die Hälfte senken.

1.2.4.3. Steroide und Ocytocin

Wie schon in einem vorhergehenden Abschnitt (1.2.4.1.) gezeigt wurde, führte exogenes Ocytocin, an bestimmten Zyklustagen verabreicht, zu niedrigeren Progesteronkonzentrationen im Corpus luteum (LHABETSWAR et al. 1964). Progesteron bewirkt außerdem eine Veränderung in der Ionenkonzentration, die zu einer Erhöhung der Membranpotentiale und somit zu einer geringeren Erregbarkeit und deutlich niedrigeren Kontraktionsbereitschaft des Uterus führt (KMENT, 1976).
DÖCKE (1958) konnte nach Verabreichung von Diäthylstilböstrol eine Steigerung der Uteruskontraktionen nach manueller Stimulation nachweisen.
Bei Schafen konnte ein Ocytocinkonzentrationsanstieg im Plasma während des Zyklus, nicht aber während der Trächtigkeit, auf manuelle Stimulation des Genitales, nachgewiesen werden (ROBERTS und SHARE, 1968, ROBERTS, 1975).
Diese Ocytocinfreisetzung konnte durch Progesterongaben verhindert, durch Östrogenapplikation erhöht werden (ROBERTS und SHARE,1969,1970). Diese Autoren vermuteten, daß die Steroide in der Hypophyse und im Hypothalamus auf die Freisetzung des Ocytocin Einfluß nehmen. In Rattenhypophysengewebe ist die Ocytocinkonzentration während des Proöstrus am höchsten, sie kann durch Östradiolbenzoat noch gesteigert werden (CROWLEY et al. 1978). Nach YAMAGUCHI et al. (1979) soll sich dieser Konzentrationsanstieg in der Hypophyse auch in den Plasma-Ocytocinspiegeln zeigen.
Östrogene steigern nicht nur die Ocytocinfreisetzung,

sondern stimulieren auch die Prostaglandinsynthese (STORMSHAK et al. 1969, CALDWELL et al. 1972, BARCIKOWSKI et al. 1974, SHARMA und FITZPATRICK, 1974, ROBERTS et al. 1975). Nach SMALL et al. (1978) sollen Oestrogene die durch Ocytocin stimulierte Prostaglandinsynthese steigern.

1.2.4.4. Interaktionen zwischen Ocytocin und Prostaglandinen

Die luteolytische Wirkung von Prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) ist seit längerem bekannt. Wie in Kapitel 1.2.4.1 gezeigt wurde, hat exogenes Ocytocin, an bestimmten Tagen verabreicht, zyklusverkürzende Wirkung. Ob diese Effekte auf einer Interaktion der beiden Hormone beruhen, wurde von mehreren Autoren untersucht. Endogenes Ocytocin, durch mechanische Uterusstimulation bzw. durch vaginale Distension freigesetzt, induziert einen $PGF_{2\alpha}$-Anstieg im Ramus uterinus der Vena ovarica (FLINT et al. 1975). Diese Freisetzung erfolgte auch während der Trächtigkeit und war umso stärker, je näher der Geburtstermin rückte (MITCHELL et al. 1977).
Bei Infusion von exogenem Ocytocin waren die PG-Freisetzungen um die Geburt am höchsten, sie betrugen aber auch noch nach der Geburt den bis zu 8-fachen Ausgangswert (MITCHELL et al. 1975).
Wurden 100 I.U. Ocytocin an den Zyklustagen 3-6 verabreicht, so fanden COOKE und HOMEIDA (1982), daß die $PGF_{2\alpha}$ Konzentration 30 min. post injectionem auf Werte von bis zu 800 pg/ml anstieg. Wird Ocytocin an drei aufeinanderfolgenden Tagen an den Zyklustagen 1 bis 6 verabreicht, erfolgt der höchste $PGF_{2\alpha}$ Anstieg am 3. Zyklustag und hat einen verkürzten Zyklus zur Folge (NEWCOMB et al. 1977). Physiologische Mengen von Ocytocin in die arteriellen Gefäße des Uterus verabreicht, führten am Zyklustag 14 zu

den höchsten $PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationen in der Uterusvene (ROBERTS et al. 1975). MILVAE und HANSEL (1980) konnten nach 2 mal täglicher Ocytocininjektion an den Zyklustagen 4 bis 6 nur im venösen Teil des Uterus, nicht aber im arteriellen Teil, einen $PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationsanstieg nachweisen.Da Ocytocin die Prostaglandinsynthese im Uterus stimuliert (MITCHELL et al. 1975a, ROBERTS et al. 1975, CHAN, 1977), müssen nicht nur im Myometrium sondern auch im Endometrium Ocytocin-Rezeptoren vorhanden sein. ROBERTS et al. (1976) konnten diese Hypothese bestätigen, sie fanden während des Oestrus die höchste Rezeptorenzahl. Während dieser Zeit ist die Fähigkeit des Ocytocins Prostaglandine freizusetzen am höchsten (ROBERTS und McCRACKEN, 1976, NEWCOMBE et al. 1977).
Hieraus folgert WHALLEY (1978) für Ocytocin eine doppelte Wirkung, einmal direkt auf das Myometrium, zum anderen indirekt auf das Endometrium über eine Prostaglandinfreisetzung. CHAN (1977) fand darüber hinaus, daß $PGF_{2\alpha}$ nach Ocytocinhemmung Kontraktionen am Rattenuterus auslöst. Er folgert daraus, daß im Myometrium neben Ocytocin Rezeptoren auch solche für Prostaglandine vorhanden sein müssen. Umgekehrt konnte er nach Hemmung der PG-Synthese durch Ocytocingaben wieder Uteruskontraktionen auslösen. Verschiedene $PGF_{2\alpha}$ -Analoga bewirken beim Rind eine Ocytocinfreisetzung (SCHAMS und KARG, 1980, SCHALLENBERGER et al. 1984). Beim Schwein führt $PGF_{2\alpha}$ sowohl im Dioestrus als auch post partum zu einem Anstieg der Ocytocin-Konzentration in der Vena jugularis (ELLENDORF et al. 1978, 1979). $PGF_{2\alpha}$ und PGE_2 erhöhen beim Menschen die Ocytocin-Konzentration im Plasma und im Harn (GILLESPIE et al 1972).
PRILUSKY et al. (1976) fanden dagegen bei Ratten eine Blockierung der Ocytocinfreisetzung durch $PGF_{2\alpha}$ Applikation, da hierbei die Milchejektion ausblieb. BULLERMANN (1984) vermutet unterschiedliche Interkationen zwischen Ocytocin und $PGF_{2\alpha}$:Im Myometrium gibt es seiner Ansicht nach keine Interaktionen, beide Hormone bewirken Kontraktionen; im Endometrium dagegen sollen beide Hormone einen

Einfluß auf die Luteolyse ausüben. FAIRCLOUGH et al. (1981) konnten mit einer passiven Immunisierung gegen $PGF_{2\alpha}$ eine Zyklusverlängerung erreichen.
Ein Zusammenhang zwischen den Ovarsteroiden und Ocytocin sowie Prostaglandinen beschreibt McCRACKEN (1980). Demnach vermittelt Ocytocin die $PGF_{2\alpha}$-Synthese im Endometrium, die Wirkung des Ocytocins wird jedoch durch Progesteron und Östrogene kontrolliert, sie üben somit einen indirekten Einfluß auf die $PGF_{2\alpha}$-Synthese aus.

1.2.4.5. Ocytocin als Ovarhormon

Der oben beschriebene Zusammenhang zwischen Ovarsteroiden und Prostaglandinen und Ocytocin ließ eine Beteiligung des Ocytocins am Zyklusgeschehen vermuten. In Proben, die aus der Vena jugularis bei Schafen stammen, konnten während der Lutealphase höhere Werte (bis 30 pg/ml) als am Zyklusende (1 - 17 pg/ml) gemessen werden (SCHAMS et al. 1981, SHELDRICK und FLINT, 1981).
Eine Abhängigkeit von der Ovulationsrate stellten SCHAMS et al. (1982) fest. Sie fanden 2 Tage vor bis 2 Tage nach der Ovulation niedrige Ocytocinwerte (um 3 pg/ml). An den Zyklustagen 5 bis 7 erreichten Tiere mit einer hohen Ovulationsrate Ocytocinkonzentrationen von 30 - 60 pg/ml, solche mit niedriger Ovulationsrate wiesen dagegen nur 13 - 31 pg/ml Ocytocin auf. Danach fielen die Ocytocinkonzentrationen wieder ab und erreichten um die Zyklustage 14.-15. Werte von 7 bzw. 4 - 5 pg/ml. Ein Vergleich mit Progesteron zeigt, daß Ocytocin um die Brunst die niedrigsten Werte aufweist, dann parallel zum Progesteron ansteigt, aber schon vor der Luteolyse wieder abfällt (WEBB et al. 1981). WEBB fand darüberhinaus, daß mit dem Absinken der Ocytocinwerte ein Anstieg der $PGF_{2\alpha}$ - Konzentration erfolgt.

Auf das Rind konnte das bisher Bekannte erst übertragen werden, als es gelang, die Nachweisgrenze für Ocytocin mit dem Radioimmuntest auf etwa 0,25 - 0,5 pg/ml zu senken (SCHAMS, 1973). SCHAMS et al. (1973) fanden bei Rindern in der Vena jugularis im Oestrus etwa 1 pg Ocytocin/ml Plasma. Die Ocytocinwerte stiegen während der Lutealphase kontinuierlich an, erreichten am Zyklustag 8 die höchsten Werte (bis 5 pg/ml), um dann vor der Luteolyse wieder abzusinken.

BULLERMANN (1984) wirft die Frage auf, ob Ocytocin schon während der Lutealphase die Prostaglandinsynthese stimuliert, oder ob während der Luteolyse hohe Ocytocinschübe erfolgen, die bisher noch nicht erfaßt wurden, da die Freisetzung von Ocytocin pulsförmig erfolgt (MITCHELL et al. 1982, WALTERS et al. 1982).

Die Parallelität zwischen der Ocytocin - und Progesteronfreisetzung (WEBB et al. 1981, SHELDRICK et al. 1981, SCHAMS et al. 1982), sowie die Tatsache, daß bei ovarektomierten Schafen konstant niedrige Ocytocinspiegel gemessen wurden (SCHAMS et al. 1982), legte die Vermutung nahe, daß die Ocytocinsekretion von einem funktionsfähigen Ovar abhängt.

BULLERMANN (1984) konnte in der Vena cava caudalis auf der Höhe der Einmündungsstelle der Vena ovarica deutlich höhere Ocytocinwerte messen als in der Vena jugularis.

WATHES und SWANN (1982) konnten im Gelbkörper erhebliche Ocytocinmengen nachweisen.

Diese Ergebnisse konnten SCHAMS et al. (1983b) bestätigen, die darüberhinaus auch in der Follikelflüssigkeit Ocytocin fanden. Der Nachweis von Neurophysin I soll ebenfalls erfolgt sein (SCHAMS, persönliche Mitteilung), zumindest wurden Sekretgranula im Corpus luteum gefunden, mit Gebilden, die Ähnlichkeit zum Neurophysin I aufweisen (WATHES und SWANN, 1982). RODGERS et al. (1982) wiesen in den großen Lutealzellen (>19 µm) 30 mal mehr Ocytocin nach als in den kleinen, von der Theka abgeleiteten Zellen.

Aufgrund des reichlichen Vorkommes von neurohypophysären Peptiden vermuten WATHES et al. (1983), daß Ocytocin im Corpus luteum synthetisiert wird.

2.1. Methoden und Material

2.1. Probengewinnung

2.1.1. Katheterimplantation

Da möglichst frequente Blutentnahmen über einen längeren Zeitraum erfolgen sollen, bekommen die Versuchstiere Dauerkatheter implantiert. Je nach Fragestellung wurde hierfür die Vena jugularis externa, die Aorta abdominalis bzw. die Vena cava caudalis kathetisiert. Als Katheter wurde ein silikonisierter Vinylschlauch (Firma: Dural Plastics & Eng. Phy. LTD Austral) mit 2,0 mm Außen - bzw. 1,0 mm Innendurchmesser verwendet.
Die operative Katheterimplantation in die Vena jugularis externa bzw. Vena cava caudalis erfolgte nach der hier im Institut entwickelten und von WALTERS et al. (1984) beschriebenen Methode.
Hierbei wird auf Höhe des 5. bis 6. Schwanzwirbel die Vena caudalis mediana dargestellt und ein Katheter etwa 65-70 cm weit eingeführt, so daß seine Spitze cranial der Einmündungsstelle der Venae ovaricae zu liegen kommt. Die Katheterposition wird anhand eines Vergleichs der Progesteronwerte zwischen Vena cava caudalis und Vena jugularis überprüft. Für eine gute Postion sollten die Progesteronwerte in der Vena cava caudalis mindestens 3-fach höher sein als in der Vena jugularis.
Die Implantation in die Aorta abdominalis erfolgte nach den gleichen Grundsätzen und wurde parallel zur Implantation in die Vena cava caudalis vorgenommen. Analog zum venösen Verlauf wurde in die Arteria caudalis mediana eingegangen, ebenfalls zwischen dem 5. und 6. Schwanzwirbel.

Da großer Wert auf eine lange Funktion der Katheter gelegt wurde, mußte nach allen Regeln der Antisepsis und Asepsis gearbeitet werden.

Zur Infektionsprophylaxe wurde den Tieren grundsätzlich post operationem die therapeutische Dosis von Tardomyocel comp.^{R} (Bayer) und Chloramphenicolsuspension^{R} (Albrecht) verabreicht. Außerdem wurden die Tiere während der ganzen Versuchsdauer klinisch überwacht. Bei Anzeichen einer Infektion wurden die Tiere nach Erstellung eines Antibiogramms über mindestens 3 Tage antibiotisch versorgt.

2.1.2. Entnahmen und Behandlung der Proben

Die Probennahme erfogte derart, daß zunächst die in den Katheter vorgelegte heparinisierte Kochsalzlösung aspiriert wurde, danach wurden mit einer Einmalplastikspritze (10 ml Braun Injekt) unter kontinuierlichem Zug etwa 11 ml Blut entnommen. In diesen Einmalspritzen wurden 0,2 ml eines gerinnungshemmenden und enzymblockierenden Stabilisators vorgelegt. Dieser Stabilisator wurde im Institut im Labor von Dr. H. Meyer hergestellt (Herstellung: 0,3 M EDTA TITRIPLEX III (111,7 g/l) + 1% Aspirin Acetylsalicylsäure (10,0 g/l) werden in Aqua bidest gelöst, mit 15%iger NaOH auf pH 7,4 eingestellt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt). Nach der Entnahme wurde wieder heparinisierte Kochsalzlösung in die Katheter infundiert. Danach wurde die Blutprobe in ein heparinisiertes Zentrifugenröhrchen (Firma SARSTED, Art. Nr. 95/16, 10 ml Röhrchen mit NH_4-Heparinat) überführt, mehrmals über Kopf geschwenkt, 5 bis 10 Minuten in einem Eis/Wasserbad gekühlt und danach 20 Minuten bei 4°C und 3 000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Das Plasma wurde danach mit Pasteurpipetten abgehebert, fraktioniert und bei -23°C eingefroren. Die Entnahmefrequenz wird beim jeweiligen Versuchsprogramm erwähnt.

2.2. Hormonanalytische Verfahren

2.2.1. Radioimmuntest (RIA) für Ocytocin

Die Ocytocinbestimmung erfolgte mit dem von SCHAMS et al. (1979 und SCHAMS et al. 1983) entwickelten RIA. Hierbei konkurrieren das zu bestimmende und das radioaktivmarkierte Hormon um einen spezifischen Antikörper. Nach einer bestimmten Inkubationszeit erfolgt die Trennung von freiem und gebundenem Hormon. Über die Ermittlung der spezifisch gebundenen Radioaktivität wird mittels einer Eichkurve die Menge des gesuchten Hormons berechnet.

2.2.1.1. Extraktion des Ocytocins aus dem Blutplasma

2.2.1.1.1. Kartuschenextraktion

Entscheidend für eine möglichst niedrige, untere Meßgrenze ist eine exakte Extraktion, sowie eine Konzentrierung des Hormons, um eine größtmögliche Empfindlichkeit des RIA zu erreichen. Mit einer vorgeschalteten Kartuschenextraktion konnte die Empfindlichkeit des RIA auf 0,25 - 0,5 pg/ml gesteigert werden. Bei diesen Kartuschen handelt es sich um Minisäulen, die mit einer Packung Silicagel, das mit C_{18}-Fettsäureresten derivatisiert ist, bestückt sind ($SEP\text{-}PAK_{18}$ Cartidges, Waters Associated USA). Durchfließt die Probe die Säule, so werden verschiedene Plasmafraktionen abhängig von ihrer Polarität zurückgehalten. Diese Substanzen können wieder mit Lösungsmitteln mit anderer Polarität abgewaschen werden. Ocytocin wird mit einem Elutionsmittel, das der Polarität von Ocytocin entspricht, eluiert. Die Kartuschen können für mehrere Extraktionen (5-10) hergenommen werden. Dabei richtet sich die Anzahl

der möglichen Extraktionsdurchgänge vor allem nach der Reinheit der Plasmaproben.
Der Ablauf einer Extraktion ist nachfolgend beschrieben.
1. Aktivierung der Kartuschen mit 2 ml Methanol.
2. Äquilibrierung der Säule mit 5-10 ml Aqua bidest.
3. Plasmaprobe, mit 2,0 ml Phosphatpuffer (0,5 M;pH 7,5) verdünnt, um Volumenverluste beim Auftragen (Resttropfen etc.) zu verringern.
4. Hochpolares Lösungsmittel, hier 4 ml Essigsäure (1,5%ig, pH 4,85).
5. Elution des Ocytocins mit 2,0 ml Tetrahydrofuran (THF); diese Fraktion wird gesammelt.
6. Mit erneut 2,0 ml THF wird die Säule gereinigt.

Jetzt ist derl.Extraktionsdurchgang beendet, der nächste beginnt wie ab 2.(SCHAMS, 1983).
Die gesammelte Fraktion wird über Nacht im Vakuumschrank bei 40°C niedergetrocknet. Der Rückstand wird in 0,5 - 2,0 ml Albuminpuffer (je nach erwarteter Konzentration) aufgenommen (Albuminpuffer: 1 000 ml 0,5 M Phosphatpuffer pH 7,5 mit 0,5 g Humanalbumin und 50 mM EDTA Titriplex). Danach wird die Probe geschüttelt (Vortex) und kann danach im RIA eingesetzt werden.

2.2.1.1.2. Acetonextraktion

Diese Extraktionsmethode führt zu einer unteren Nachweisgrenze von etwa 3.0 pg/ml, die erheblich über der der Kartuschenextraktion liegt, da hier eine Konzentration der Ocytocinfraktion nicht möglich ist.
In den nachstehend beschriebenen Versuchen habe ich diese Art der Extraktion nur bei dem Versuch "Ocytocin-Antikörper" angewendet, um die Gesamtocytocinmenge zu messen, d.h. sowohl die freie als auch die gebundene Fraktion.
Um eine Auftrennung der Ocytocin-Antikörper-Bindung zu erreichen, mußte ich das Extraktionsverfahren (BAUMANN, 1980)

etwas modifizieren. Zu 1,0 ml Plasma wurde 0,2 ml 1NHCL gegeben und geschüttelt. Nach einstündiger Inkubation bei Zimmertemperatur wurden 2,0 ml gekühltes (-20°C) Aceton zugegeben und geschüttelt. Nach Neutralisation mit 0,2 ml 1NaOH und erneutem Schütteln wurde die Probe, bei 4°C und 2 000 U/min 30 Minuten lang zentrifugiert. Das Schütteln sollte die Proteinfällung und die Auftrennung der Ocytocin-Antikörper-Bindung unterstützen. Nach Auftrennung in Präzipitat, das verworfen wird, und Überstand, wird der Überstand abgekippt, über Nacht bei 40°C im Vakuumschrank niedergetrocknet, in 1,0 ml Albuminpuffer aufgenommen, geschüttelt und im RIA eingesetzt.

2.2.1.2. Analysengang

Die Auswertung im RIA erfolgte anhand eines Pufferstandards mit den Eichpunkten 0,125/0,25/1/2/4/8/16 pg. Diese Konzentrationen wurden erreicht, indem 0,2 ml Albuminpuffer synthetisches Ocytocin (Sandoz) zugesetzt wurde. Zum Standard gehören außerdem ein Blindwert (ohne Ocytocin, zur Bestimmung der absoluten Bindung, sie liegt bei 36 $\pm$ 4.6%) und ein Leerwert (ohne Antiserum zur Überprüfung des markierten Ocytocins). Die Standardwerte werden im Dreifachansatz bestimmt. Die Proben werden im Doppelansatz von je 0,2 ml pipettiert. Jeder Probe(außer Leerwert wird von Kaninchen gewonnenes Antiserum zugegeben (0,1 ml Volumen, Endverdünnung 1:80 000, Kaninchen 8, Entn. am 15.1.79) und 24 Stunden im Kühlschrank inkubiert. Danach wird 0,1 ml markiertes Ocytocin mit einer Gesamtaktivität von etwa 3 000 counts/min zugegeben. Nach einer weiteren Inkubation im Kühlschrank von 48 Stunden - während dieser Zeit kommt es zur Verdrängungsreaktion am Antikörper mit der Einstellung eines Gleichgewichts - erfolgt die Auswertung.

Nach Zusatz von 0,1 ml verdünnten Pferdeserums, um eine Reaktion des Ocytocin-Antikörper-Komplex mit der Kohle zu verhindern, wird der Probe 1,0 ml gekühlte Kohlesuspension ($4^{o}C$, 2mg/1,0 ml PO_4-Puffer 0,05 M, pH 7,5) zugegeben, geschüttelt (Vortex) und bei Zimmertemperatur 20 Min. inkubiert. Danach erfolgt die Trennung in Sediment (Kohle und markiertes freies Ocytocin) und Überstand (gebundenes Ocytocin) durch Zentrifugieren bei 3 000 U/min, $4^{o}C$, 20 min lang. Nach Abkippen des Überstandes in Teströhrchen, wird dessen Aktivität in einem Gammazähler der Fa. Beckmann 4 Min. gezählt. Der Probenwechsel erfolgt automatisch. Die Aktivität wird in counts/min auf einen Lochstreifen übertragen. Da die einzelnen Eichpunkte nicht extrahiert werden, müssen in jedem Test Kontrollproben mitlaufen. Diese Kontrollproben erstrecken sich zum einen auf Plasmaproben, denen eine definierte Menge Ocytocin zugesetzt wird, über die sich die Bestimmung der Extraktionsverluste bestimmen läßt (die Wiederfindung liegt bei 71,8 $\pm$ 8,4% und einem Variationskoeffizienten von 11,8%). Zum anderen dienen Kontrollproben, die über die gesamte Eichkurve verteilt sind, als Interassay (der Variationskoeffizient beträgt 12,3 - 16,1%). Der Intraassay (Variationskoeffizient 7-8%) wird über identische Proben, die über den einzelnen Test verteilt sind (Anfang, Mitte,Ende) ermittelt.
Der Intersept bei 50 % relativer Bindung liegt bei $2,2 \pm 0,2$ pg mit einem Variationskoeffizienten von 8,4%. Die Berechnung der unbekannten Ocytocinproben erfolgt nach der Erstellung der Standardkurve über Computer.

2.2.2. Progesteronbestimmung

Für die Progesteronbestimmung wurde ebenfalls der RIA eingesetzt (HOFFMANN et al. 1973, SCHÖNDORFER, 1982).
Sie erfolgte im hiesigen Labor im Rahmen einer Teamarbeit, die Ergebnisse wurden für vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt.

2.2.3. Östradiol-17-ß Bestimmung

Die Untersuchung auf Östradiol-17-ß wurde ebenfalls von Mitarbeitern des Instituts durchgeführt. Diese Bestimmung erfolgte nach der kürzlich von WALTERS et al.(1983) und SCHALLENBERGER et al. (1984) beschriebenen Methode.

2.2.4. Prostaglandine

Die Prostaglandinbestimmungen erfolgten ebenfalls im Rahmen der Teamarbeit am hiesigen Institut unter Leitung von Dr. H.H.D. Meyer.

2.3 Versuchspläne

Durchgeführt wurden 3 Hauptversuche und einige Neben-bzw. Tastversuche. Da es sich jeweils um verschiedene Tiere handelte, wird hierauf gesondert eingegangen.
Die Versuche erfolgten alle auf der Versuchsstation "Veitshof" d. Südd. Versuchs - und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Weihenstephan.
Versuch I sollte sich über einen physiologischen Zyklus erstrecken, ohne besondere Manipulationen, unter besonderer Berücksichtigung von Ocytocin und Prostaglandinen. Zu diesem Versuch können auch die Kontrolltiere der anderen Versuche hinzugezogen werden.
Im zweiten Versuch wurden die Tiere post partum hysterektomiert und standen bis nach Ablauf des ersten Zyklus der entsprechenden Kontrolltiere im Versuch.
Der dritte Versuch erstreckte sich wieder über einen Zyklus, wobei die Tiere mit spezifischen Antikörpern gegen Ocytocin behandelt wurden.
Die Tast - und Nebenversuche sollten zyklusabhängige Interaktionen zwischen den Hormonen zeigen, nachdem verschiedene exogene Hormone zugeführt wurden.
An allen Versuchen waren noch weitere Teams des Instituts beteiligt.

2.3.1. Versuch 1: Ocytocin und Prostaglandine im Zyklus (Ocy-PG)

2.3.1.1. Tiermaterial

Für diesen Versuch standen 5 Rinder der Rasse Braunvieh vom Veitshof im Alter von 18 bis 22 Monaten zur Verfügung. Anhand dieses Versuchs sollen einmal die Schwierigkeiten aufgezeigt werden, die zu einer drastischen Verringerung der Endzahlen in jedem Versuch führten. Obwohl die

Katheterimplantation im allgemeinen problemlos verläuft und weitgehenst am Institut standardisiert ist, spielen die individuellen Verhältnisse bei den Tieren eine nicht unerhebliche Rolle. So entspring t die Vena sacralis mediana , in die hier über die Vena caudalis mediana eingegangen wird, entweder direkt aus der Vena cava caudalis oder aus einer der beiden Venae iliacae comm nes(SCHUMMER et al. 1976). An jeder Einmündungsstelle besteht ein gut funktionierendes Klappensystem und jeweils die Möglichkeit, daß sich der Katheter in die Peripherie und nicht in die Vena cava caudalis orientiert. Da der Katheter relativ weich sein muß, um Irritationen an der Gefäßwand möglichst auszuschließen, reicht ein hartnäkkiges Verhaken an der Venenklappe oder ein Verlauf in eine ungewünschte Richtung zum Scheitern der Operation, da kein korrigierender Einfluß auf den Katheter genommen werden kann.

An diesen Problemen scheiterte die Katheterimplantation in die Vena cava caudalis in diesem Versuch bei zwei Tieren. Da die Einmündungsstellen der Venae ovaricae ebenfalls individuell variieren, und der Katheter nur aufgrund von Erfahrungswerten in Position gebracht werden kann, ergab die Überprüfung anhand der Progesteronwerte bei einem weiteren Tier einen ungenügenden Katheterersitz. So waren für diesen Versuch zunächst noch 2 Tiere "Resana" und "Rolfi" übrig. Hier zeigte sich das nächste Problem: Aufgrund der Entfernung zwischen Katheterspitze und Einmündungsstelle der Vena ovarica ergibt sich ein bestimmter Verdünngungseffekt, d.h. je näher Katheterspitze und Vena ovarica zueinander stehen, umso konzentrierter an Ovarhormonen ist das erfaßte Blut. Da diese Entfernung individuell variiert, ist ein Vergleich der Absolutwerte unmöglich.

Hinzu kommt, je optimaler ein Katheter postiert ist, umso mehr spielt eine auch noch so geringgradige Verlagerung

eine Rolle. Gelangt der Katheter - aus welchen Gründen auch immer- nur eine Kleinigkeit über die Einmündungsstelle nach caudal, so kann aus einer optimalen Katheterposition eine wertlose werden, da nur noch peripheres Blut gewonnen wird. Diesem Problem fiel nach 9 Tagen Versuchsdauer die "Resana" zum Opfer. Als nächsten nicht kalkulierbaren Faktor stellte sich die Reaktion der Gefäßwand dar; so kann ein Thrombus die Katheterspitze ventilförmig dauernd oder nur vorübergehend verschließen. Das erklärt warum an bestimmten Tagen keine bzw. nicht alle gewünschte Proben gezogen werden konnten.

2.3.1.2. Versuchsbeschreibung

Dieser Versuch sollte einen ganzen Zyklus abdecken. Die Tiere wurden mit Cloprostenol (Estrumate^{R}) synchronisiert, dazu erfolgten 2 Injektionen im Abstand von 11 Tagen. Die Entnahme der Blutproben nur aus der Vena cava caudalis erfolgte nach folgendem Muster: Beginnend mit dem 11. bzw. 12. Zyklustag wurde in 3-stündigem Abstand jeweils eine Blutprobe genommen. Darüberhinaus wurde an den Zyklustagen 12, 14-21 sowie im neuen Zyklus an Tag 3,6 und 9 frequente Entnahmen über 5 Stunden (von 9^{00} - 14^{00}) alle 15 Minuten durchgeführt. Untersucht werden sollten die Proben außer auf Ocytocin und Prostaglandine noch auf Progesteron und Östradiol-17-ß und im Oestrus auf LH.

Der Versuchsbeginn wurde in die Lutealphase gelegt, um Luteolyse, Oestrus und Ovulation genauer zu verfolgen. Die 3-stündigen Entnahmen sollten Erscheinungen, die eventuell außerhalb der frequenten Entnahmen auftreten, erfassen (z. B. LH-Gipfel) und darüberhinaus einen cirkadianen Rhythmus überprüfen. Die frequenten Entnahmen sollten kurzfristige und pulsatile Freisetzungen über einen längeren Zeitraum belegen.

2.3.2. Versuch 2: Hysterektomie post partum

2.3.2.1 Tiere

Für diesen Versuch wurden 7 hochträchtige Kalbinnen gekauft und 14 Tage vor Versuchsbeginn am Versuchsgut "Veitshof" aufgestellt. Die Tiere waren 2-2,5 Jahre alt. Es handelte sich um Kalbinnen verschiedener Rassen (2 Deutsches Fleckvieh, "Bora" und "Dizzy"; 2 Schwarzbunte,"Eos" und "Huberta", 1 Rotbunte, "Julia"; 1 Braunvieh,"Cloe"; 1 Kreuzung Deutsches Fleckvieh x Braunvieh, "Fee".
Die Geburten erfolgten alle unter Aufsicht. Der Geburtsverlauf war durchweg leicht, nur bei einem Tier leistete 1 Mann Zughilfe. Die Kälber wurden alle lebend geboren. Die Nachgeburt ging jeweils spontan ab. Um keine Ocytocinfreisetzungen zu provozieren, wurden die Kalbinnen weder gemolken, noch durften die Kälber saugen. Eine Ausnahme machte die Kalbin "Fee", eine Mastitis acuta (Streptokokken und Staphylokokken) erforderten vom 7. - 10. Tag post partum häufiges Ausmelken, sowie systemische und lokale Behandlung mit Sulfonamiden und Antibiotika.
Die Tiere wurden dem Zufall entsprechend aufgeteilt in 3 Kontrolltiere "Bora", "Eos", "Fee", sowie 4 Tiere, die hysterektomiert wurden; "Cloe", "Dizzy", "Julia" und "Huberta". Versuchsbeginn war zum Zeitpunkt der Geburt.

2.3.2.2. Operationsbeschreibung

Allen Tieren wurde sofort post partum Katheter auf beschriebene Art und Weise in die Aorta abdominalis und in die Vena cava caudalis implantiert, was infolge der Gefäßweitstellung um die Geburt problemlos verlief.
Bei diesem Versuch war keine praktikable Möglichkeit gegeben, die Katheterposition zu überprüfen, da in einer Nicht-Lutealphase operiert wurde. Es zeigte sich, daß

bei einem Tier (Bora) die Katheterspitze zu weit caudal saß. Bei der "Eos" trat nach 21 Tagen eine Veränderung der Katheterposition auf, so daß danach auch sie ausfiel. Im Anschluß an die Katheterimplantation wurde die Hysterektomie durchgeführt. Unter Sedation mit Chlorpromazin (Combelen^{R}), kleiner Epiduralanästhesie (2%iges Neocain^{R}) und Infiltrationsanästhesie wurde mit rechtsseitiger Lapratomie eine Inversio et Prolaps uteri hergestellt. Die Lapratomie-Wunde wurde sofort wieder nach allgemeingültigen chirurgischen Prinzipien verschlossen.
Die Uterusamputation erfolgte in etwas modifizierter Form nach der Beschreibung von HEIDRICH (1955).
Der Uterus wird an seiner dorsal Seite stumpf durchtrennt, so daß die mit den Uterushornspitzen eingestülpten Ovarien auffindbar waren. Nach doppelter Ligatur werden die beiden Rami uteri der Arteriae ovaricae sowie der Venae ovaricae und die Ligamenta lata mit einem Emaskulator (nach SERRA) durchtrennt. Eine Ligatur soll das retrograde Verbluten verhindern. Nach Verbringung der Ovarien in die Bauchhöhle, wird im Bereich der Cervix eine Massenligatur mit einem Gummiband gelegt (Gummiband: Deuser-Fitnessband, Fa. Elastikon, Solingen). Diese elastische Ligatur wird unter maximalen Kraftaufwand von 2 Personen angelegt. Die Ligatur wird gesichert. Danach werden die größeren Uterusgefäße caudal der Ligatur einzeln unterbunden. Der Uterus wird mit Metallkluppen ringsherum unter Schonung der Ligatur abgesetzt. Es ist darauf zu achten, daß keine Uterusschleimhaut erhalten bleibt und der Uterusstumpf so klein wie möglich ist. Der Operationsstumpf wird in die Vagina verbracht. Die Zervix schließt sich danach über den Stumpf.
Die Tiere erhalten 2 Tage lang prophylaktisch Tardomyocel^{R} und ein Analgetikum (TOMANOL^{R}). Der Volumenverlust wird mit Plasmaexpander (DEXTREN^{R})ersetzt, um Schockzustände zu verhindern. Die Operation verlief bei 3 Tieren erfolgreich. 1 Tier verblutete 1,5 Tage post operationem in die Bauchhöhle.

Bei einer Kalbin (Julia) lief kein Zyklus an. Wie es sich später anläßlich einer Laparotomie zum Zwecke der Ovarektomie herausstellte, waren die Ovarien in den breiten Beckenbändern fest verwachsen. Die Kalbin "Huberta" - sie wurde 4 Tage ante partum katheterisiert - fiel im Laufe des Versuchs nach etwa 3 Wochen einer nicht beherrschbaren Infektion zum Opfer.
Während aller Versuche hatten wir mit hospitalisierenden Keimen der Stämme Pseudomonas aeruginosa und Coryne bakterium pyogenes zu kämpfen.*

2.3.2.3. Versuchseinteilung

Ziel dieses Versuchs war, die post partum-Phase, den 1. Zyklus und die Auswirkung einer Hysterektomie hierauf zu erfassen.
Für diese Zielsetzung wurden vom 2. Tag post partum an in der ersten Woche 2- tägig, danach 3-tägig frequente Entnahmen durchgeführt. Das bedeutete, daß 4 Stunden lang eine Blutentnahmeserie im Abstand von 10 Minuten erfolgte. Um ganz kurzfristige Freisetzungen zu erfassen, wurde während jeder Serie 10 Minuten lang in 2-minütigem Abstand Blut genommen. Im Rahmen der auf S. 27 genannten Teamarbeit wurden die Proben auf Ocytocin, Prostaglandine, Östradiol-17-ß, Pogestron und FSH untersucht.

2.3.3. Versuch 3: Spezifische Antikörper gegen Ocytocin (Ocy-AK)

2.3.3.1. Tiere

Für diesen Versuch standen 8 Kalbinnen im Alter von 17 - 22 Monaten zur Verfügung. Die Tiere hatten alle

* An dieser Stelle möchte ich Herrn Priv. Doz. Dr. Berner aus dem Institut für Tierhygiene für seine vorzügliche Unterstützung danken.

einen regelmäßigen Zyklus. Sie wurden so synchronisiert (2-malige Cloprostenolinjektion im Abstand von 11 Tagen), daß die Brunsttermine innerhalb von 4 Tagen lagen.
3 Tiere waren als Kontrolltiere, 5 als Versuchstiere vorgesehen. Es sollten Katheter in die Vena cava caudalis und in die Aorta abdominalis implantiert werden.
Die Operation verlief bei 5 Tieren (4für den Versuch und 1 als Kontrolle vorgesehen) erfolgreich. Um trotzdem eine höhere Endzahl zu erhalten, erhielten die nicht erfolgreich operierten Tiere alle 3 Tage einen Katheter in die Vena jugularis externa.
Die Kalbinnen "Kibitz", "Rispe","Kuni", "Katja" und "Kerina" erhielten Antikörper gegen Ocytocin. "Rita", "Kosa" und "Riola" dienten als Kontrolltiere. Um Aussagen über die Absolutwerte machen zu können, wurde bei allen Tiere jeweils am Tag der Behandlung eine 2,5-stündige Entnahmeserie, mit einer Frequenz von 15 Minuten, aus der Aorta abdominalis bzw. der Vena jugularis durchgeführt. In der Aorta abdominalis bzw. in der Vena jugularis wird Blut gewonnen, das "weit weg vom Ovar" eine gute Durchmischung erfahren hat, Werte in diesem "peripheren" Blut sind untereinander besser vergleichbar als Werte aus der Vena cava caudalis, da die Katheterposition eine erhebliche Bedeutung hat (s. 2.3.1.1.).
Die frequenten Entnahmen aus der Vena cava caudalis erfolgten an den Zyklustagen 2,4,6,8,10,12,14-21 über 8 Stunden (von 8^{00} - 16^{00} Uhr) in 15-minütigem Abstand.

2.3.3.2. Versuchsbeschreibung.

Ziel des Versuches war es, die Auswirkung von spezifischen Antikörpern gegen Ocytocin auf den Zyklus von Rindern zu untersuchen und dabei den Einfluß auf Prostaglandine und Ovar-Steroide zu erfassen. Zu diesem Zweck wurden den Tieren spezifische Antikörper gegen Ocytocin (wie sie in 2.3.3.3. beschrieben werden), beginnend mit dem Tag der Brunst, über eine Zykluslänge verabreicht. Um anaphy-

laktische Reaktionen möglichst gering zu halten, erhielten die Tiere die Antikörper an 7 Tagen in 3-tägigem Abstand.
Die Operation erfolgte nach der ersten Behandlung, die bei allen Tieren über einen Katheter der Vena jugularis externa erfolgte, am 1. bzw. 2. Zyklustag. Die weiteren Behandlungen erfolgten über die Katheter in der Aorta abdominalis bzw. über die Vena jugularis. Eine Behandlung über den Katheter in der Vena cava caudalis wurde vermieden, um über etwaige Gefäßreaktionen die Probengewinnung aus dem Katheter nicht zu gefährden.
Die Behandlung erfolgte nach den Grundsätzen wie sie für Blutübertragungen empfohlen wird (ROSENBERGER et al. 1978). Nach langsamer Infusion von 20ml der hergestellten Lösung (als biologische Verträglichkeitsprobe nach OEHLECKER) und einer Pause von 5 Minuten, in der auf etwaige Inkompatibilitätserscheinungen geachtet wurde, erfolgte die Infusion der restlichen Lösung über einen Zeitraum von 15 Minuten. Die Tiere standen nach jeder Behandlung mindestens eine weitere Stunde unter klinischer Beobachtung.

2.3.3.3. Gewinnung spezifischer Antikörper gegen Ocytocin

Die Antikörper wurden aus einem Schafplasmapool gewonnen. Die Schafe waren gegen Ocytocin immunisiert. Ocytocin hat ein relativ niedriges Molekulargewicht (1.007) und somit geringe antigene Eigenschaften. Um diese antigenen Eigenschaften zu erhöhen, wird es mit Thyreoglobulin (Molekulargewicht etwa 6oo ooo) gekoppelt. Wird dieses Konjugat zusammen mit Freud's komplettem Adjuvans appliziert, erhöht sich die antigene Wirkung. Diese Emulsion wird auf möglichst viele Stellen der Haut intra-und subcutan

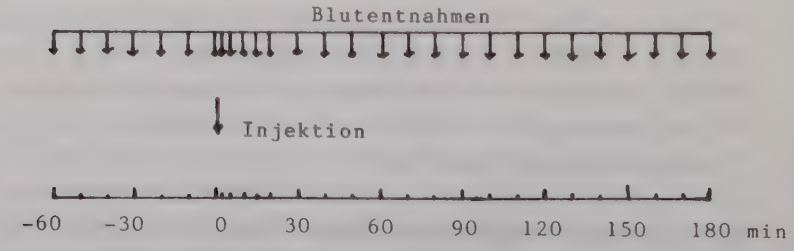
verteilt und mehrfach geboostert. Da es sich bei dem so gewonnenen Antiserum vom Schaf um ein Proteingemisch handelt, das am Rind mehrmals verabreicht stark allergen wirken kann, ist eine Auftrennung dieses Proteingemisches zur besseren Verträglichkeit nötig. Hierzu wurde die reversible Fällung mit Alkohol nach COHN (KARLSON, 1980) durchgeführt und so die Albumine elimiert. Auf eine vorgeschaltete Fibrinfällung wurde in diesem Versuch verzichtet. Nach Einstellung eines pH von 6,9 wird das Plasma unter Kühlung (-5°C im Alkoholbad) auf eine 25%ige Alkohol-Plasmakonzentration gebracht. Eine ständige Temperaturkontrolle ist wichtig, da hier eine exotherme Reaktion abläuft. Ein Ansteigen der Temperatur auf über 0°C führt zu einer irreversiblen Fällung.
Nach einer Inkubation von 1 Stunde bei -3°C, wird 30 Min. bei 6 000 U/min und 0°C zentrifugiert. Der Überstand wird verworfen; das Präzipitat in Aqua bidest. aufgenommen und gefriergetrocknet.
In vitro neutralisieren 6 mg von diesem gefriergetocknetem Präzipitat 69,6 ng Ocytocin. Ausgehend von einem maximalen Ocytocinspiegel von 7 pg/ml im Blutplasma, einer gesamt Plasmamenge von etwa 25 l/Rind und einer Ocytocin Halbwertszeit von 14 Min., errechnet sich mit einem 3-fachen Sicherheitsfaktor die Ocytocin Tagessekretion auf etwa 14,4 µg/Tier. Um diese Menge Ocytocin an Antikörper zu binden, sind 1,2522 g des Präzipitats erforderlich. Da nur alle 3 Tage die Antikörperlösung verabreicht werden sollte, um anaphylaktische Reaktionen möglichst gering zu halten, ergibt sich eine 3-Tagesdosis von 3,76 g Präzipitat. Dieses Präzipitat wurde am Tag der Infusion in 250 ml isotonischer Kochsalzlösung aufgenommen und bei Zimmertemperatur appliziert.
Um bei den Kontrolltieren vergleichbare"Stressoren" zu setzen, wurde ihnen analog behandeltes Schafplasma ohne Antikörper gegen Ocytocin auf diesselbe Art appliziert.

2.3.4. Zusätzliche Tastversuche über mögliche Interaktionen von Ocytocin mit anderen Hormonen

2.3.4.1. Prostaglandinanaloga verabreicht an weibliche Kastraten

Für diesen Versuch wurden 5 Tieren, die schon im Versuch "Hyst. p.p." standen, nach Laparotomie die Ovarien entfernt. Die Tiere "Bora", "Eos" und "Fee" waren demnach ovarektomiert als auch hysterektomiert. Da die Tiere bereits einmal einen Katheter in der Vena cava caudalis hatten, war die Vena caudalis mediana obliteriert, was ein erneutes Eingehen in die Vena cava caudalis verhinderte. So wurden für diesen Versuch Katheter in die Vena jugularis externa implantiert. Nach einer Kontrollphase von 1 Stunde (um die Basissekretion von Ocytocin zu erfassen) wurden den Tieren 500 µg Cloprostenol (Estrumate®) intramuskulär appliziert. Die Ocytocinsekretion wurde nach untenstehendem Zeitplan noch 160 Min. post injektionem verfolgt.
Dem Tier "Eos" wurden 1 Tag vor diesem Versuch 100 µg Östradiol-17-ß intravenös appliziert.

Abbildung 1: Frequenz der Blutentnahmen bei Cloprostenolapplikation



2.3.4.2. Ocytocin Injektionen an bestimmten Zyklustagen

In diesem Versuch sollte die Auswirkung von physiologischen Mengen Ocytocin (Vetox^{R}) auf die Prostaglandin- bzw. Steroidhormon-Freisetzung vom Zyklusstand erfaßt werden. Zu diesem Zweck wurden 2 Kalbinnen (Deutsches Fleckvieh) " Lunte " und " Arche " und 1 Kuh (Braunvieh) "Zicke" Katheter in die Vena cava caudalis und in die Aorta abdominalis implantiert.
Um die Zyklustage 6,12,18 erfolgten Ocytocininjektionen bei den Kalbinnen über den Katheter in die Aorta abdominalis, um einen hohen Ocytocinpuls an den Ovarien zu setzen, bei der Kuh über die Vena jugularis.
Den Behandlungsablauf für die Kalbinnen "Lunte" und "Arche", die Dosierung und die Frequenz zeigt Abb.2:
Nach diesem Plan erfolgte die Behandlung der Tiere "Lunte" und "Arche" am Zyklustag 6, "Lunte" an Zyklustag 13 u.17 "Arche" am Zyklustag 16, sowie "Lunte" und "Arche" am Zyklustag 18, wobei an diesem Tag nur noch die erste Injektion erfolgte.
Die Kuh "Zicke" wurde an den Zyklustagen 6 und 12 nach Abb. 3 behandelt.

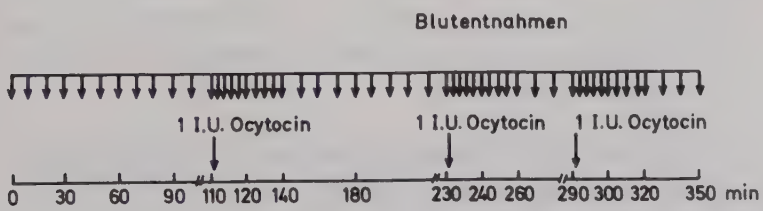


Abb. 2: Frequenz der Blutentnahmen nach Ocytocininjektionen bei "Lunte" und "Arche".

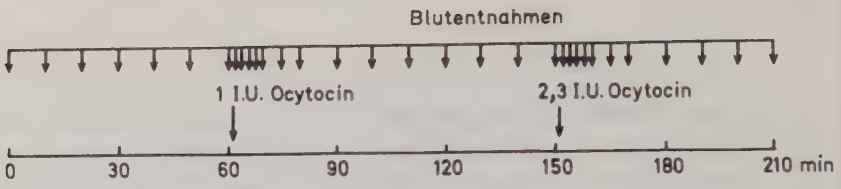


Abb.3a: Frequenz der Blutentnahmen nach Ocytocininj. bei "Zicke" am Zyklustag 6

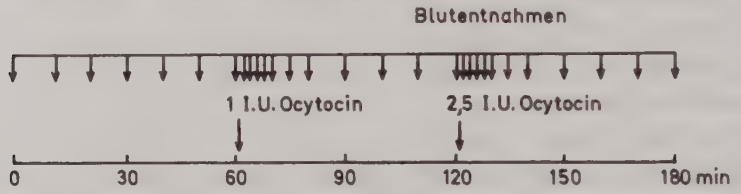


Abb. 3b: Frequenz der Blutentnahmen nach Ocytocininj. bei "Zicke" am Zyklustag 12

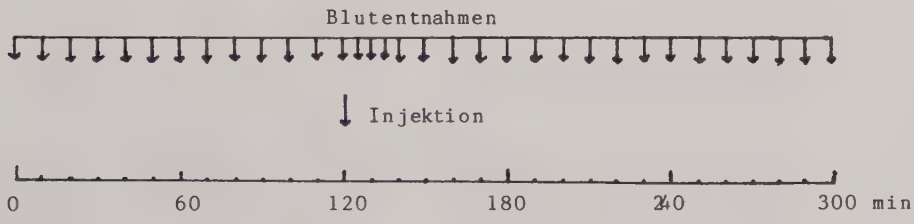
2.3.4.3. Wirkung von FSH während der Lutealphase auf die Ocytocinsekretion

In einem weiteren Versuch wurde der Kuh "Zicke" am Zyklustag 7 10 mg NIH- FSH- S_4 in 500 ml isotonischer NaCl-Lösung über einen Dauertropf über eine Stunde in die Vena jugularis externa appliziert. Wie die LH-Messung ergab, war die FSH-Präparation mit LH verunreinigt. Die Proben wurden der Vena cava caudalis entnommen. Einer Kontrollphase über 2 Stunden schloß sich die einstündige Infusion an. Die Probennahme wurde danach noch 2 Stunden fortgesetzt. Die Entnahmen erfolgten im Abstand von 10 Minuten.

2.3.4.4. Wirkung von HCG während der Lutealphase auf die Ocytocinsekretion

Am Zyklustag 8 wurden der Kuh "Zicke" 1 000 I.E. HCG (Primogonyl^R - 1 000, Schering) in 10ml isotonischer NaCl-Lösung in die Vena jugularis externa injiziert. Die Blutproben entstammen wieder der Vena cava caudalis. Das Behandlungsschema zeigt Abb. 4

Abb. 4:Frequenz der Blutentnahmen bei HCG-Injektion



2.3.4.5. Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ bei einer hysterektomierten Kalbin mit einem corpus luteum persistens

In diesem Versuch wurden der Kalbin "Cloe" 35 Tage nach der Brunst bei anhaltend hohem Progesteronspiegel innerhalb von 30 Minuten mit einer Infusionspumpe 10 mg $PGF_{2\alpha}$ (Serva) in 250 ml isotonischer Kochsalzlösung verabreicht. Parallel zu der Infusion in die Vena cava caudalis wurden aus der Aorta abdominalis Blutproben in 5-minütigem Abstand gezogen.

2.4.Verwendete Reagenzien, Medikamente und Geräte

Reagenzien:

Aceton p.a.	Merck, Artikel 14
Albuminpuffer 0,05 M, pH 7,5	1 000 ml PO_4-Puffer, 0,05M pH 7,5 mit o,5 g/l Human-albumin und 50 mM EDTA
Human-Albumin reinst	Behring-Institut
Kohle	Aktivkohle p.a. Norit A Merck
Natriumjodid (^{125}J)	HOECHST Frankfurt
Ocytocin	Sandoz, 200 I.E./ml Nr. 79010
Pferdeserum	Verdünnung 1+4 in Phosphat-puffer 0,05 M, pH 7,5
Tetrahydrofuran (C_4H_8O)	Merck Best.Nr.9731
Methanol	Merck Best. Nr. 6009

Medikamente:

Estrumate^R Cloprostenol	ICI-Pharmaceuticals Div. Alderley Park Macclesfield
Combelen^R Chlorpromazin	Bayer AG Leverkusen
Merfen-Orange Desinfektionsmittel	Zyma GmbH
Isotonische Kochsalzlösung	Fresenius
Poly-Alcohol-Haut-Antiseptikum	Albrecht, Aulendorf
Chloramphenicol Suspension 20%	Albrecht, Aulendorf
Tardomyocel^{R}comp.III pro injektione	Bayer AG, Leverkusen
Tomanol^R (Isopyrin^R, Phebuzine^R-Na)	BYK-Konstanz
Neocain^R-Lösung 2%	WDT-Hannover
Heparin	Diosynt.Holland
Vetox^R Ocytocin-Injektions-lösung 10 I.U./ml	VMG, Bad Oldeslohe
Primogonyl^R-1 000 HCG	Schering, Berlin

NIH-FSH-S_4	National Institut of Health USA
$PGF_{2\alpha}$	Serva Heidelberg

Geräte:

Katheter	Dural Plastics & Eng.Phy. LDT Austral.
Plasmaaufbewahrungsröhrchen	Sarstedt
Plasmagewinnungsröhrchen	Sarstedt
Sterilisator	Stiefenhofer Typ St 2 000 S
Gummiband	Deuser-Fitnessband Fa. Elasticon
SEP-PAK_{C18}Cartidges	Waters Assoc. USA
Vortex Schüttler	Scientivic Industries Inc
Gammastrahlenzähler	Berthold
Computer	Commodore 2 000
Gefriertrockner	Uni Trap 10 - 100

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse des Versuchs "Ocy-PG" im Zyklus

In diesem Versuch wird ganz deutlich die Grenze der Auswertungsmöglichkeit beim Vergleich der Absolutwerte sichtbar. So ergab die Progesteronauswertung für die Katheterposition bei der Kalbin "Rolfi" in Parallelproben für die Vena cava caudalis eine 6,2-fach höhere Progesteronkonzentration als in der Vena jugularis externa. Für die Kalbin "Resana" wurde ein Faktor von 37,2 gemessen, d.h. die Katheterspitze liegt bei der "Resana" bedeutend näher an der Einmündungsstelle der Venae ovaricae in die Vena cava caudalis.Diese eigentlich erwünschte gute Katheterposition war ab dem Tag der Brunst, nach dem an den Zyklustagen 19 und 20 wegen einer Verlegung des Katheters kaum Proben gewonnen werden konnten, nicht mehr gegeben (Faktor <2). Da bei "Rolfi" offenbar keine Verlagerung Katheters auftrat, erscheint sie für die Betrachtung wertvoller.

3.1.1. Probenahmen in dreistündigem Abstand

Ich möchte zunächst auf die 3-stündigen Entnahmen eingehen , um ein Profil aus der Vena cava caudalis über die ganze Zyklusdauer zu beschreiben. Wie die Abb. 5a-c zeigen, entsteht beim Ocytocinprofil der Eindruck einer wellenförmigen Hormonausschüttung. Von relativ niedrigem Niveau an den Zyklustagen 11 und 12 (etwa 4pg) ausgehend, erfolgt ein Anstieg an den Tagen 13 und 14 auf ungefähr 7 pg, danach kommt es an den Tagen 15 bis 17 zu einem erneuten Absinken der Ocytocinkonzentration, um dann an den Tagen 18 und 19 absolute Höchstwerte mit Spitzen von 26 pg bzw. 16 pg zu erreichen, die dann etwa über 5 pg (Tag 20)

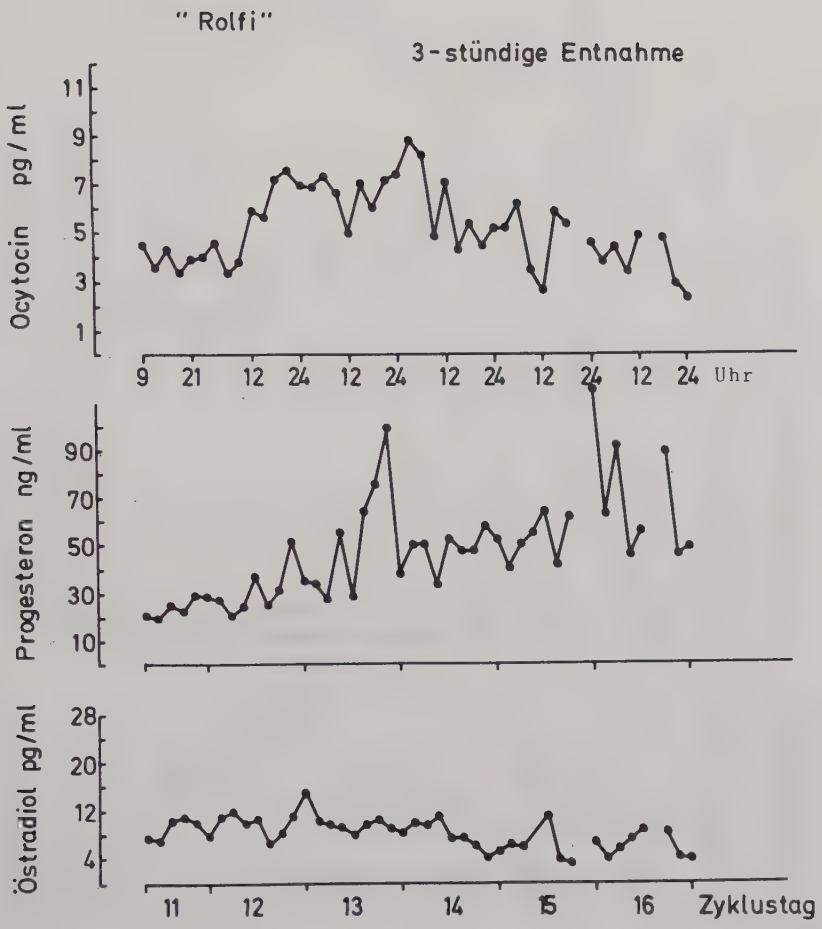


Abb. 5a: Hormonprofile von "Rolfi" an Tag 11 - 16
aus Blutproben der Vena cava caudalis

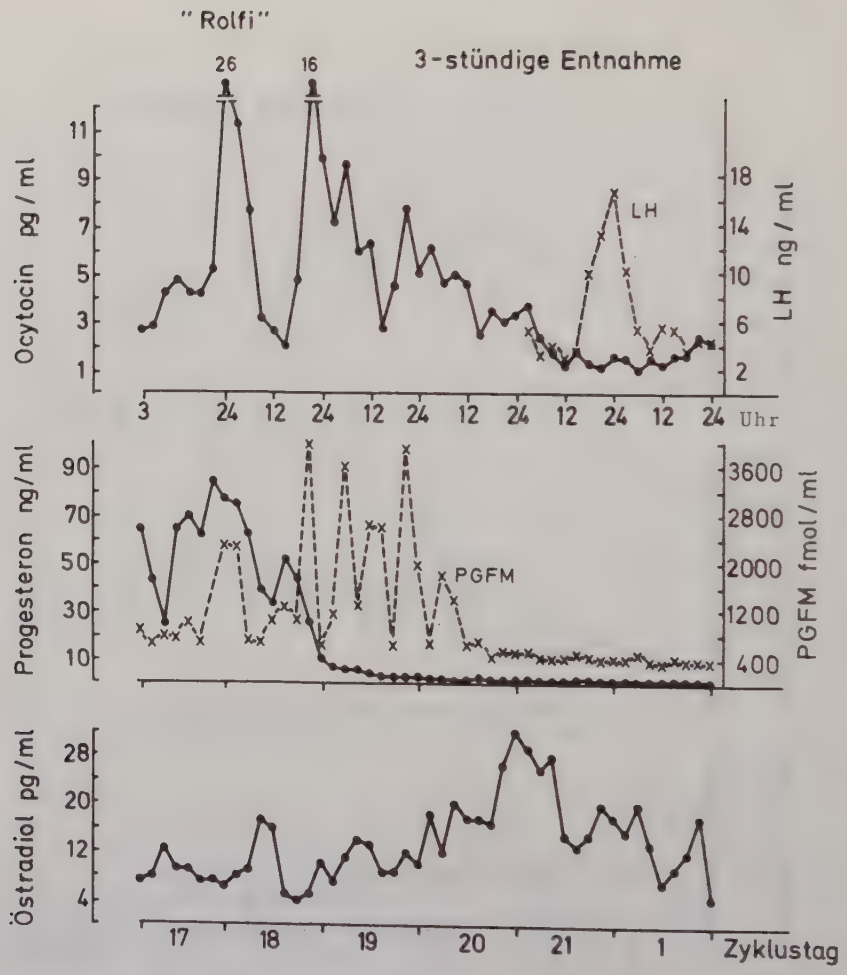


Abb. 5b: Hormonprofile von "Rolfi" um die Luteolyse aus Blutproben der Vena cava caudalis

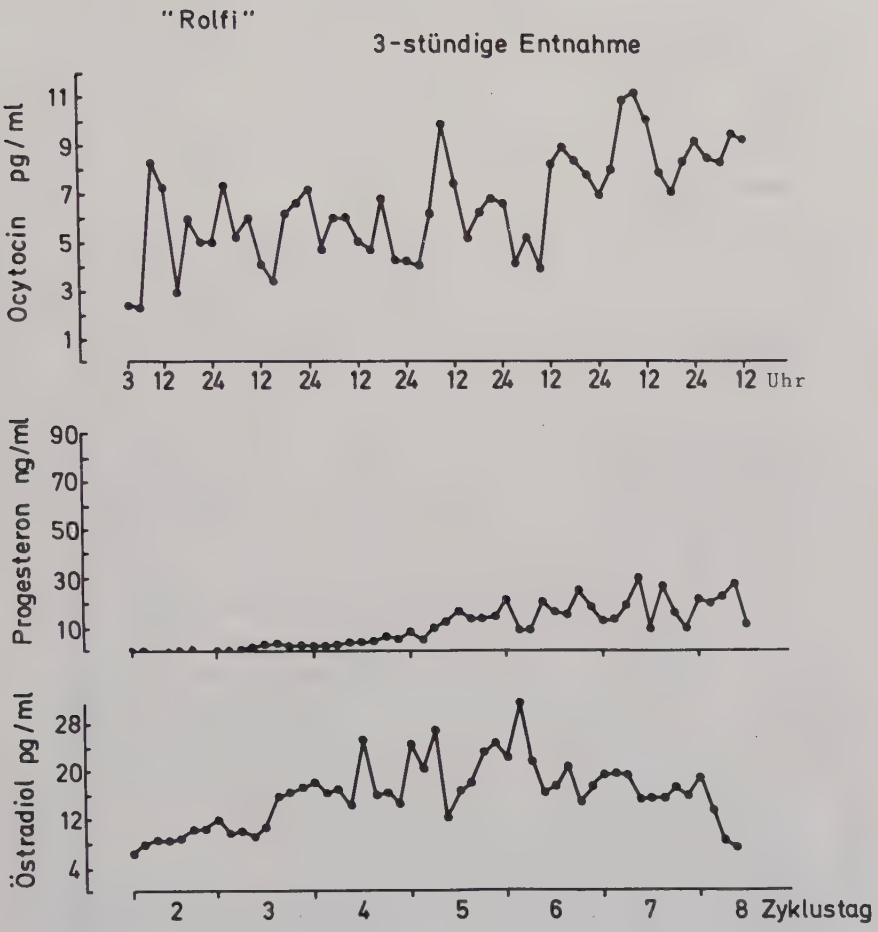


Abb.5c: Hormonprofile von "Rolfi" im Zyklusbeginn aus Blutproben der Vena cava caudalis

und 3 pg (Tag 21) auf die absolut niedrigsten Werte von 1-2 pg im Oestrus absinken.
Ab Tag 2 erfolgt erneut ein Anstieg, der am Tag 7 seinem Höhepunkt zustrebt (etwa 10 pg). Neben diesem Bild der wellenförmigen Ocytocinfreisetzung entsteht der irreführende Eindruck, daß die Ocytocinsekretion in Schüben über mehrere Stunden (teilweise 12 - 24 h) erfolgt. Daß dieser Eindruck nicht richtig ist, werden die frequenten Entnahmen zeigen.
Wie man aus den Abb. 5a-c ersieht, treffen die niedrigsten Ocytocinwerte mit dem LH-Gipfel zusammen. Die Beziehung zwischen Ocytocin und den Ovarsteroiden Progesteron (P_4) und Östradiol-17-ß (E_2) läßt eine gewisse Parallelität der Sekretionsschübe während der Lutealphase erkennen. Deutlicher wird dies in Abb. 6, den Profilen von "Resana" an den Zyklustagen 12 - 17.
Der Prostaglandin-Metabolit (13,14-dihydro-15-keto-Prostaglandin F, PGFM) steigt bei "Rolfi" etwa 400 fmol/ml an Zyklustag 11 auf etwa 8oo fmol am 17. Zyklustag an.
Der erste massive Ocytocinanstieg verläuft parallel mit dem ersten PGFM-Schub (Tag 17 und 18). Nach diesem Schub kommt es zum deutlichen Absinken der Progesteronkonzentration, gefolgt von auffallend parallel verlaufenden Ocytocin - und PGFM-Freisetzungen. Ab Tag 21 sind die PGFM -Konzentrationen wieder auf 400 bis 500 fmol/ml abgesunken und bleiben auf diesem Niveau (Abb. 5b).
Der Progesteronkonzentrationsanstieg erreicht am 5. Zyklustag wieder 10 ng/ml (Abb. 5c).
Die Abb. 7a und 7b zeigen die einzelnen zu einer bestimmten Tageszeit gezogenen Proben mit dem jeweiligen Mittelwert.
Wie hieraus ersichtlich ist, besteht kein circa-dianer Rhythmus in der Ocytocinfreisetzung, die tageszeitlichen Schwankungen sind nicht signifikant.

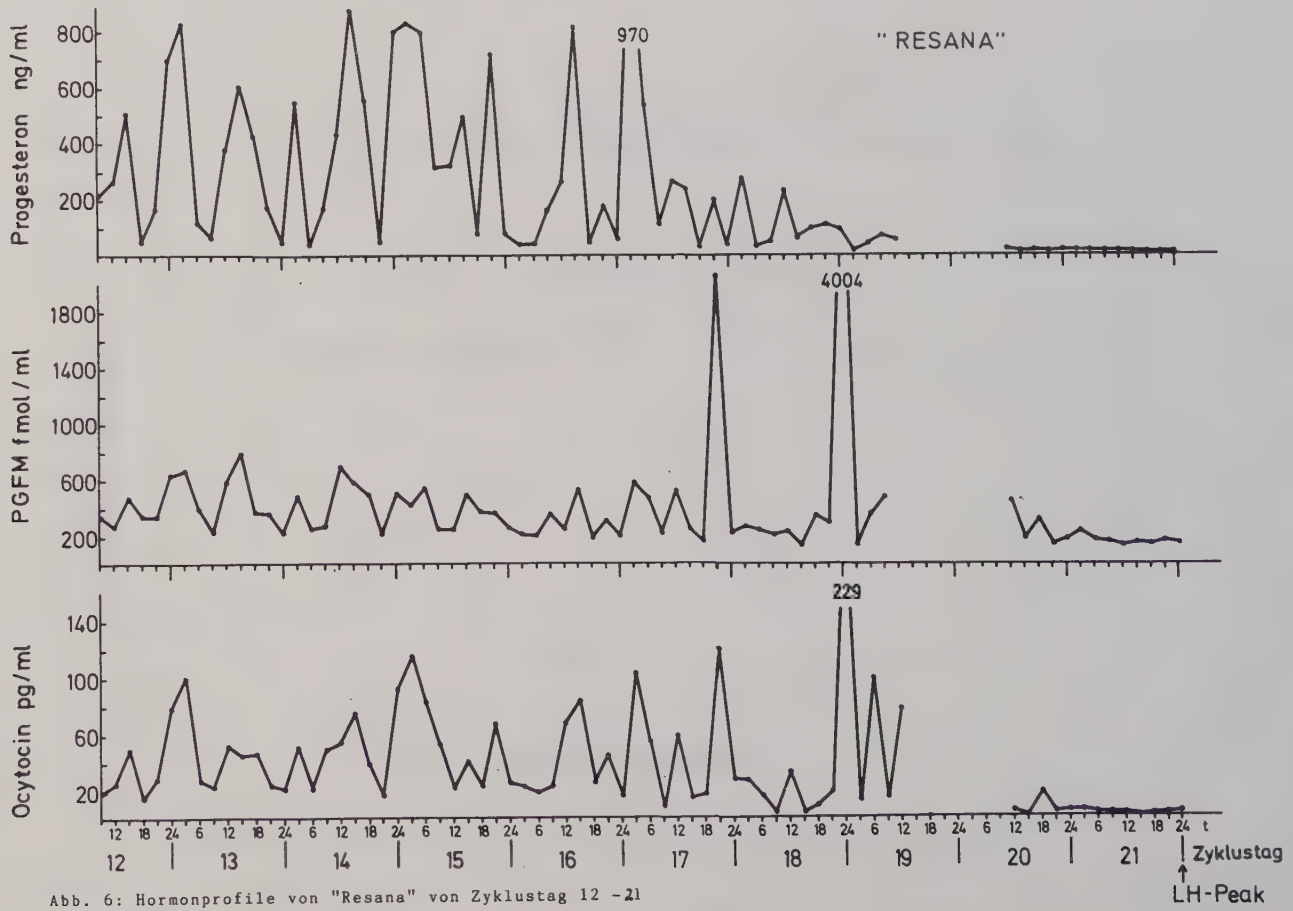


Abb. 6: Hormonprofile von "Resana" von Zyklustag 12 -21
in der Vena cava caudalis

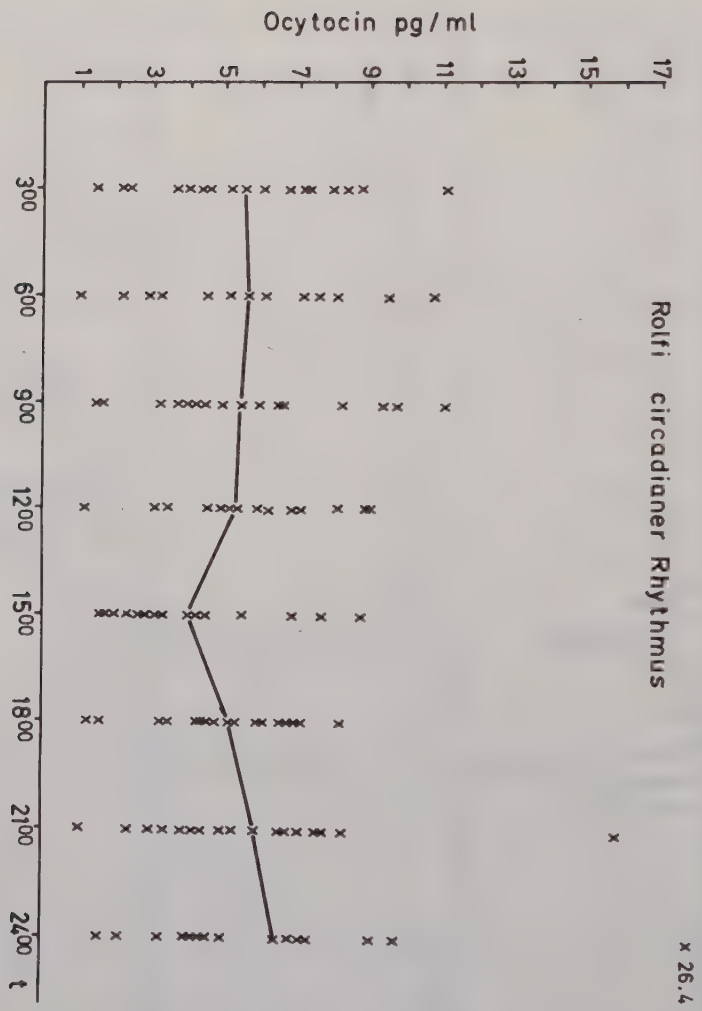


Abb.7a: Ocytocinwerte über einen Zyklus der Tageszeit zugeordnet (Rolfi) in Blutproben der Vena cava caudalis

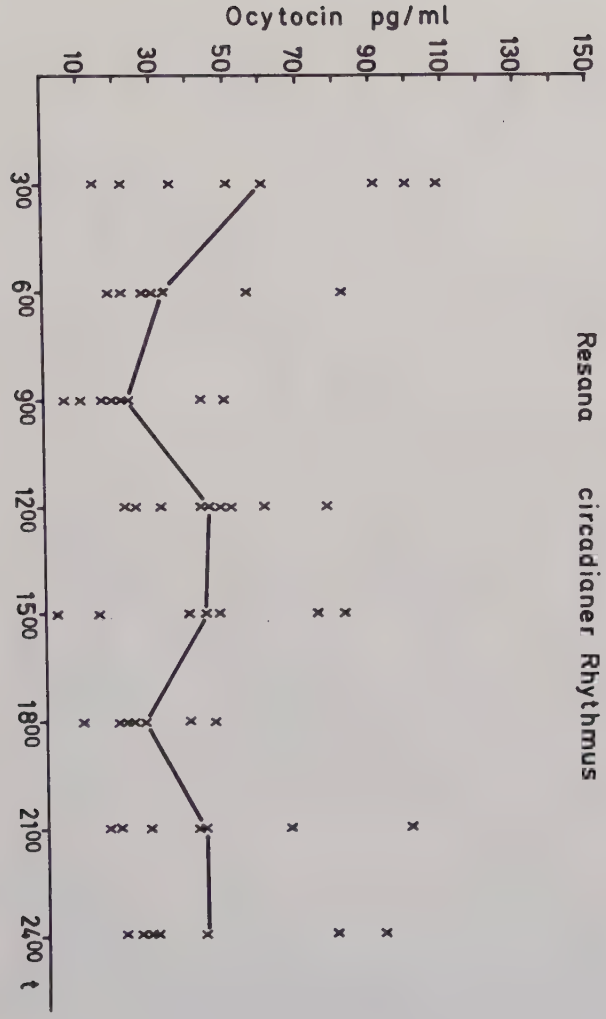


Abb. 7b: Ocytocinwerte der Tageszeit zugeordnet (Resana) in Blutproben der Vena cava caudalis

3.1.2. Blutentnahmen in frequenten Serien

Wie Abb. 8 zeigt, erstreckt sich die Ocytocinfreisetzung nicht über mehrere Stunden, sondern pulsförmig mit einer maximalen Dauer von 30 - 45 Minuten. Während einer 5-stündigen Entnahmedauer kommt es etwa zu 5 - 8 Pulsen. Diese Ocytocinpulse laufen in dieser Zyklusphase (Tag 12) fast absolut parallel zu der Progesteronfreisetzung. Der Prostaglandin-Metabolit schwankt zwischen 200 und 500 fmol/ml, wobei keine deutliche Beziehung zu der Hormonsekretion von Ocytocin bzw. Progesteron sichtbar wird.

Über den Verlauf der Ocytocinkonzentration der einzelnen Entnahmeserien gibt Tabelle I mit Abb. 9 und die Abb. 10 und 11 bzw. 12 und 13 Auskunft. Danach erfolgt die Ocytocinsekretion mit den höchsten Mittelwerten sowohl bei "Rolfi" als auch bei "Resana" bis Tag 16 bzw. 17, um am Tag 18 ein relativ niedriges Niveau mit geringen Schwankungen zu erreichen. Am Tag 19 kommt es nochmals zu massiven Ocytocinfreisetzungen, die bei "Resana"auch mit den höchsten Amplitudenschwankungen verbunden sind. Diese Freisetzungen gehen mit einer hohen PGFM-Sekretion einher. Sie erfolgen nach dem Progesteronabfall. In der Anfangs- und Mittlutealphase sind bei relativ hoher Ocytocinkonzentration die Amplitudenschwankungen bei "Rolfi" und "Resana" relativ gering.
Auffallend ist bei "Rolfi" am Tag 17, daß bei einer relativ "ruhig" verlaufenden Ocytocinsekretion (4pg/ml) ein einmaliger Gipfel mit der "Rekordfreisetzung" von 44 pg/ml Ocytocin erfolgt. Dieser Gipfel verläuft parallel zu einem Östradiol - und einem Progesteron-Gipfel. Beim Progesteron erfolgt dagegen 75 Minuten zuvor schon eine massive Freisetzung, die etwa die halbe Konzentration des 2. Gipfel erreicht.

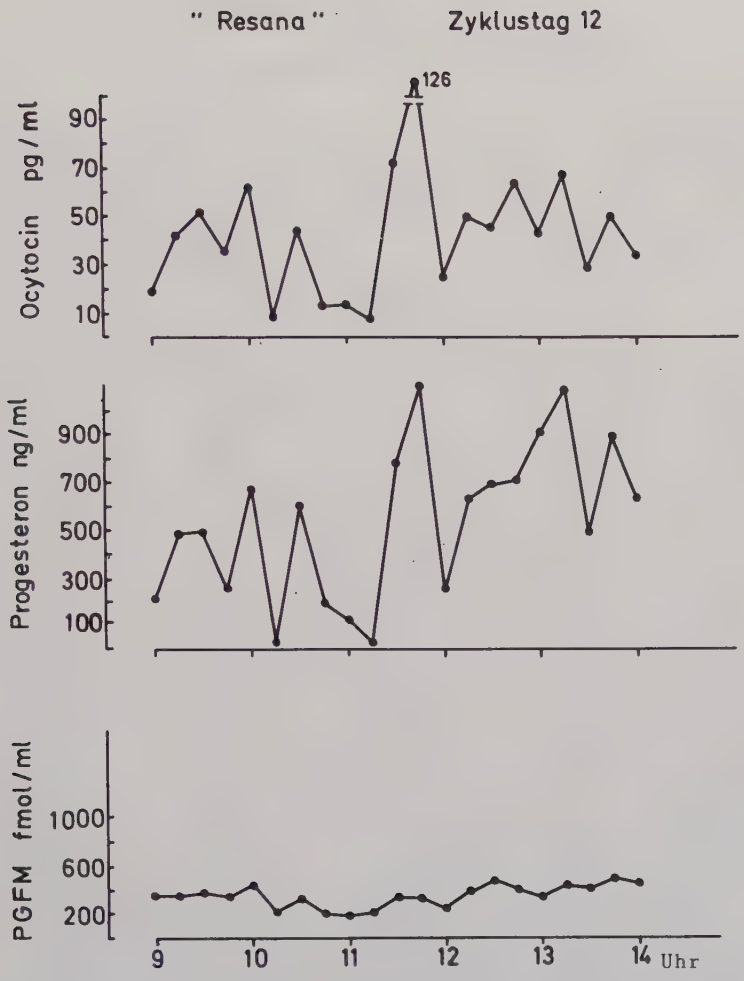


Abb. 8: 5-stündige Entnahme am Zyklustag 12 (Resana) aus der Vena cava caudalis

Tabelle I: Mittelwerte und Schwankungen der Ocytocinkonzentrationen in der Vena cava caudalis aus den frequenten Entnahmeperioden an bestimmten Zyklustagen

Entnahmen an Zyklustag:	Mittelwerte der Ocytocinkonzentrationen $\bar{X}$ = pg/ml	Schwankungen als Standardabweichung $= \pm$ pg/ml
	Resana	
12	43,5	26,7
14	14,0	15,7
15	38,9	19,4
16	49,7	20,4
17	32,1	28,3
18	15,3	10,5
19	39,3	40,9
20	4,9	2,3
21	3,1	1,1
	Rolfi	
11	4,2	0,7
13	4,6	1,1
14	6,7	2,5
15	3,9	0,9
16	7,0	6,8
17	7,0	6,9
18	2,9	0,8
19	7,1	1,2
20	4,8	0,3
2	7,4	0,7
5	8,3	1,1
8	8,8	0,9

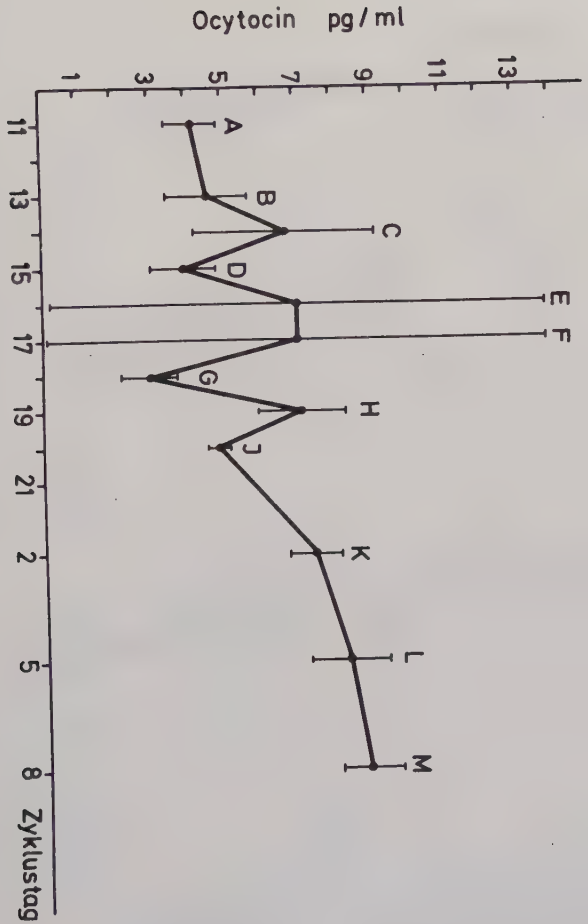


Abb. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der Ocytocinkonzentrationen in der Vena cava caudalis aus den frequenten Entnahmeperioden über einen Zyklus (Rolfi)

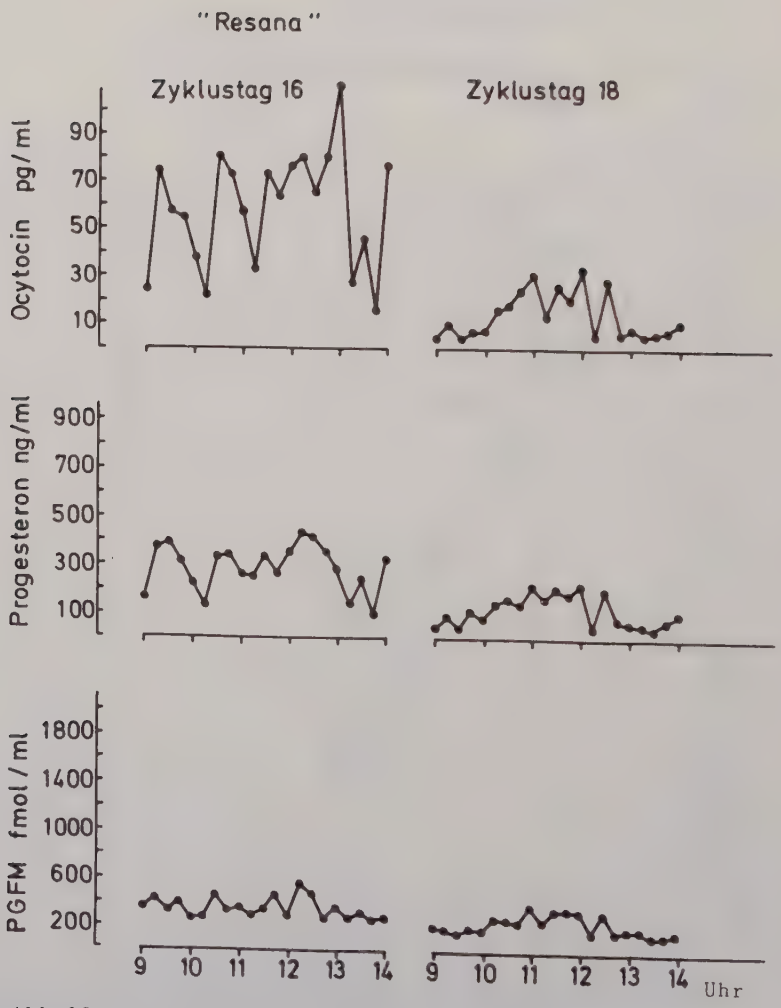


Abb.10: Ocytocin-,Progesteron-und PGFM-Profile von "Resana" an den Zyklustagen 16 und 18 in der Vena cava caudalis

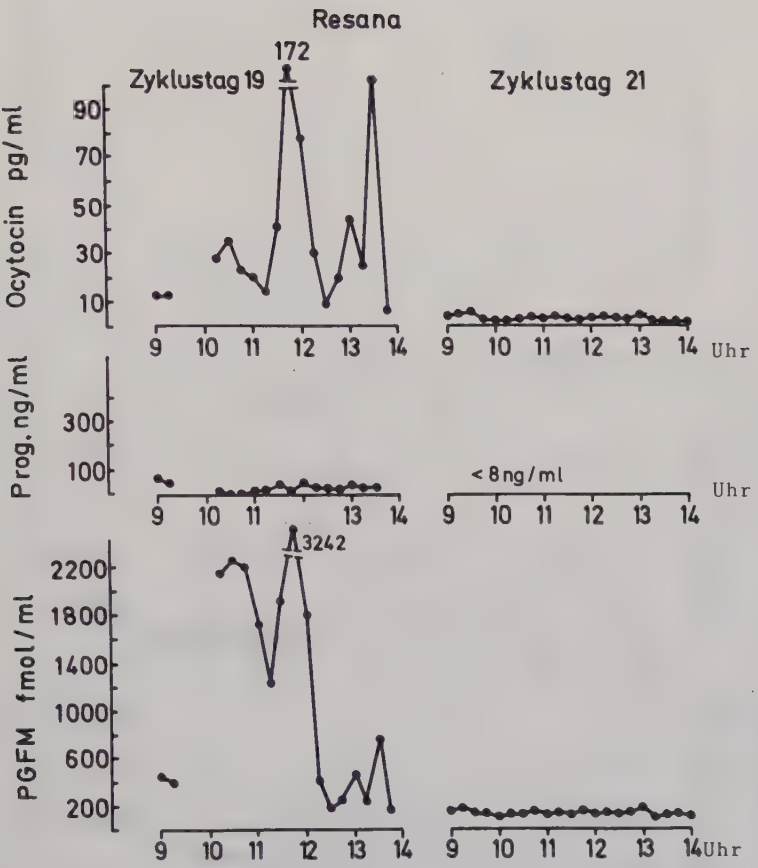


Abb. 11: Ocytocin-, Progesteron-und PGFM-Profile von "Resana" an den Zyklustagen 19 und 21 in der Vena cava caudalis

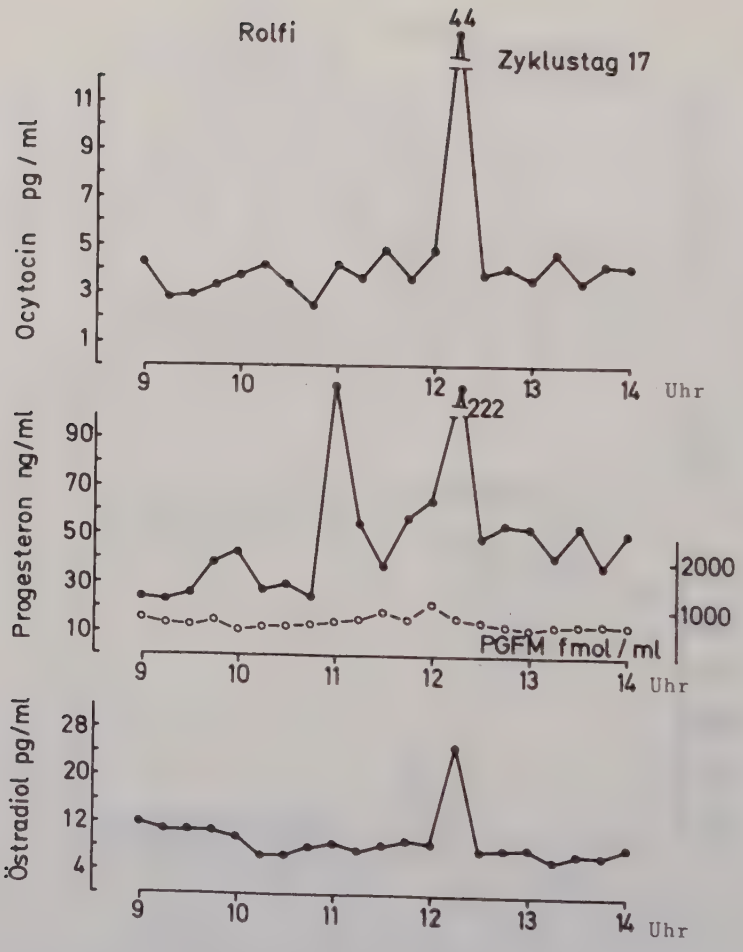


Abb. 12: Hormonprofile aus der Vena cava caudalis an Zyklustag 17 (Rolfi)

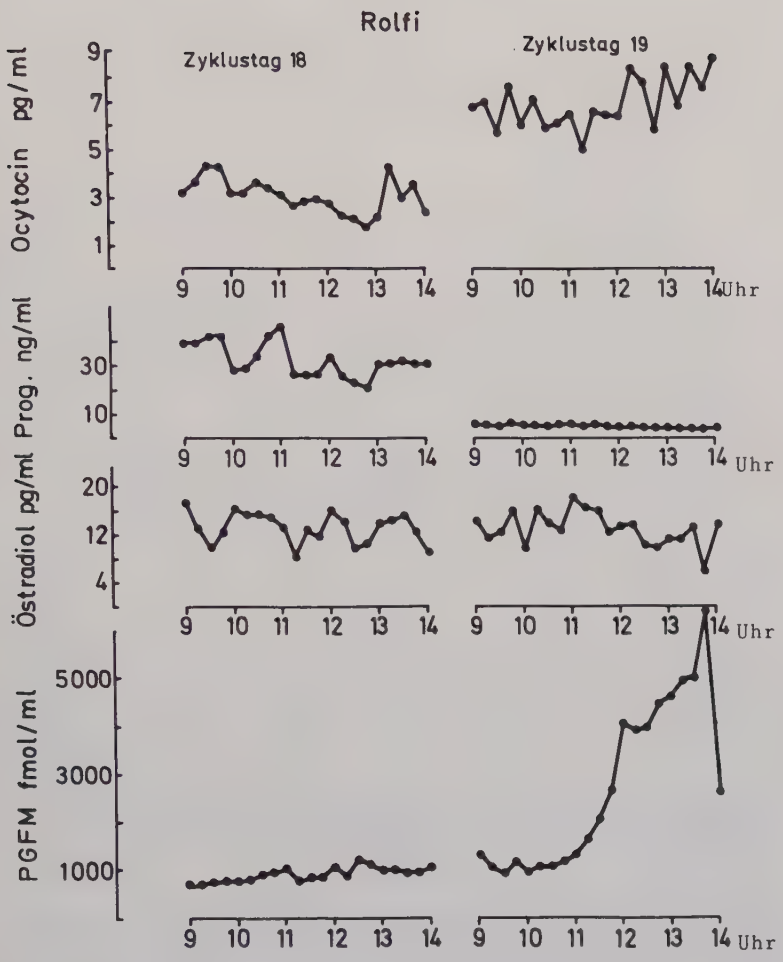


Abb. 13: Hormonkonzentrationen in der Vena cava caudalis an den Zyklustagen 18 und 19 (Rolfi)

Diese erste Freisetzung findet bei den anderen Hormonprofilen kein Äquivalent. Der PGFM zeigt zu keinem Gipfel eine deutliche Reaktion.
Während des Östrus werden die niedrigsten Ocytocinwerte gemessen. Nach der Brunst kommt es zu einem raschen Anstieg der Ocytocinkonzentration, die am Tag 2 bereits 7 pg übersteigt (Rolfi).

3.2. Ergebnisse des Versuchs: Hysterektomie post partum

Diesen Versuch kann man in 3 größere Teile trennen:
1. Die Kontrolltiere mit dem 1. Zyklus post partum können in Zusammenhang mit dem vorhergehenden Versuch betrachtet werden.
2. Vergleich der Postpartum-Phase bei allen Tieren.
3. Auswirkung der Hysterektomie auf den Zyklus.

3.2.1. Kontrolltiere

Am 13. (Eos) bzw. 14.Tag (Fee) p.p. läuft bei diesen Kühen ein Zyklus an. Wie die Ocytocinprofile (Abb. 14-16) zeigen, kommt es rasch zu einem Anstieg der Ocytocinwerte, die während der Lutealphase fast synchron mit den Progesteronwerten verlaufen. Da hier sowohl in der Aorta abdominalis, als auch in der Vena cava caudalis Katheter liegen,läßt sich die unterschiedliche Konzentration des Ocytocins deutlich zeigen.
Da nur in 3-tägigem Abstand eine Entnahmeserie erfolgte, wurde die Luteolyse nicht erfaßt.Beide Tiere hatten einen 18-tägigen Zyklus.
Es zeigte sich deutlich der pulsatile Charakter der Ocytocinfreisetzung in der Vena cava caudalis. Diese Pulse bleiben ohne deutliche Auswirkung auf die Konzentration in der Aorta abdominalis.
Bei der 2-minütigen Entnahme wurde nur einmal ein Puls

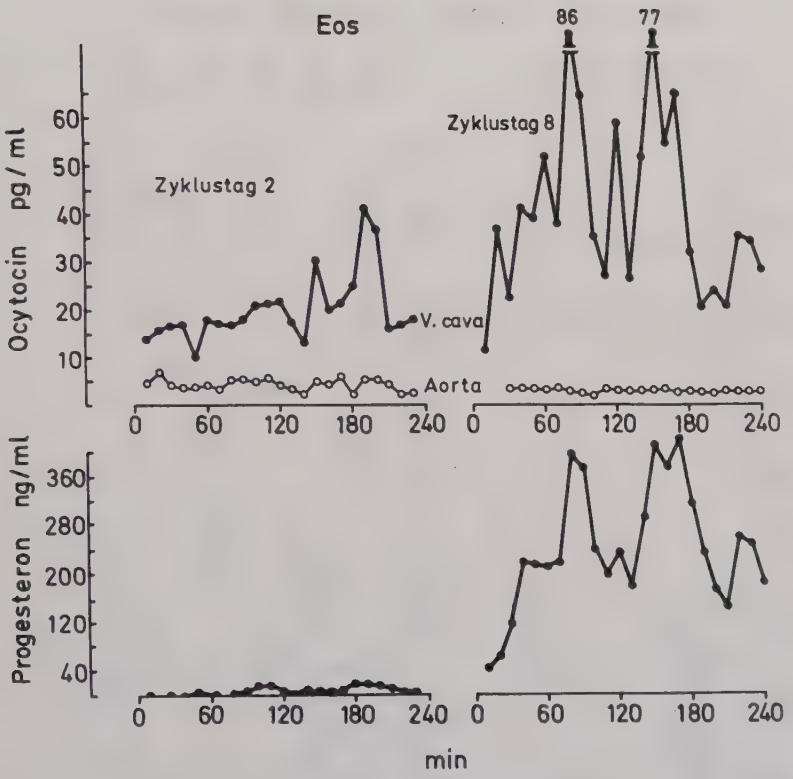


Abb. 14: Vergleich der Ocytocinkonzentrationen an den Zyklustagen 2 und 8 zwischen Aorta und Vena cava mit den Progesteronprofilen aus der Vena cava

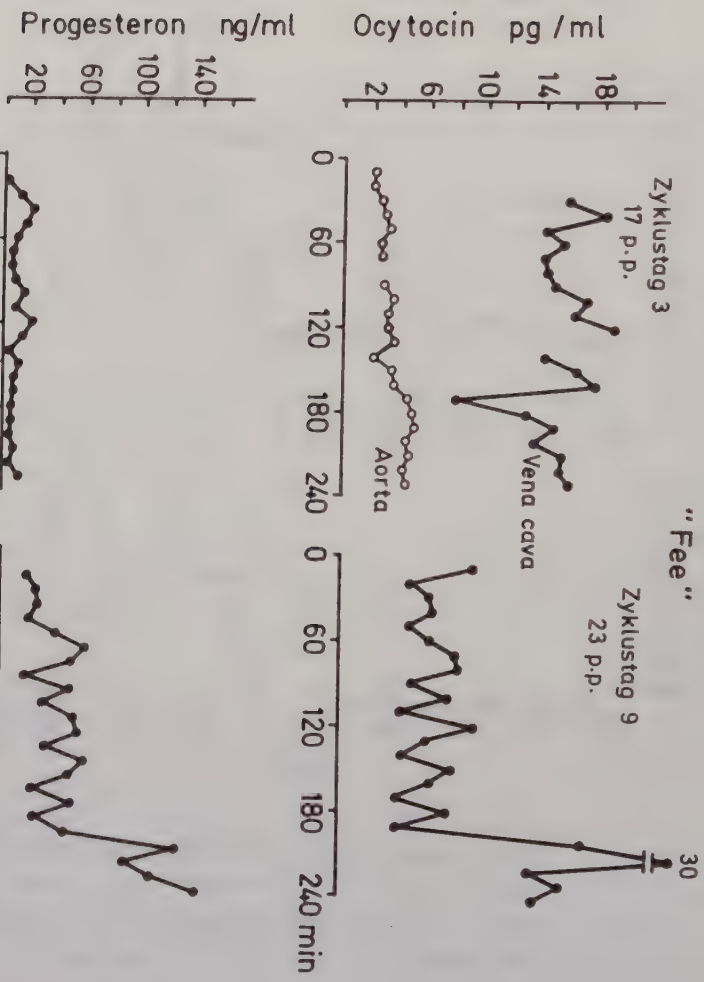


Abb. 15: Ocytocin und Progesteronprofile von "Fee" an den Zyklustagen 3 und 9

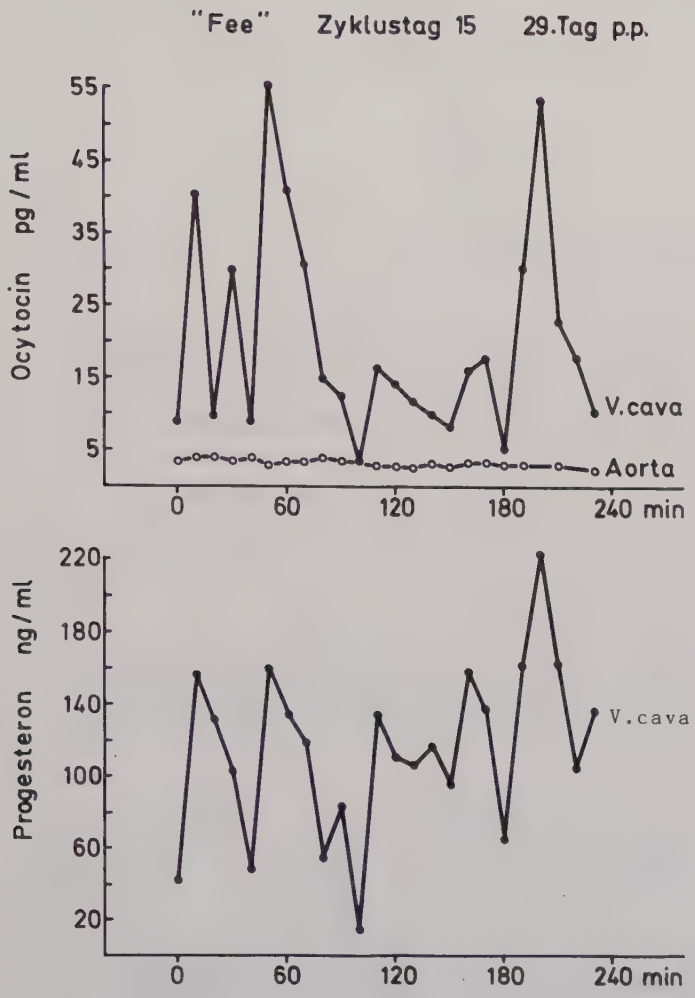


Abb. 16: Ocytocin-und Progesteronwerte von "Fee" an Zyklustag 15

(bei "Eos", Zyklustag 8) erfaßt. Dabei fiel die Ocytocinkonzentration von 177 pg/ml innerhalb von 6 Minuten über 83 und 40 auf 11 pg. Sie stieg 2 Minuten später wieder auf 90 pg an und zeigte weitere 2 Minuten danach 49 pg/ml.

3.2.2. Ocytocin während der Post partum-Phase

In der Post partum-Phase treten 4 Tage p.p. bis etwa um den 1o. Tag p.p. bei allen Tieren Ocytocinwerte von etwa 2 pg/ml auf. Dabei unterscheiden sich die beiden katheterisierten Gefäße nicht signifikant (Abb. 17). Unterschiedliche Ocytocinkonzentrationen treten am 2. Tag p.p. zutage. So liegt zu diesem Zeitpunkt die Konzentration des Ocytocin fast durchweg in der Vena cava caudalis höher als in der Aorta abdominalis. Bei "Eos" tritt am 2. Tag p.p. ein einzelner Puls von 24 pg in der Vena cava caudalis auf. Bei "Cloe" werden 6 bis 8-fach höhere Konzentrationen in der Vena cava caudalis gemessen; bei "Fee" sind die Werte nur etwa doppelt so hoch.
Diese unterschiedliche Konzentration tritt wieder 1 bis 2 Tage vor der 1. Brunst auf. Je näher der Oestrus, umso größer ist die Differenz der Ocytocinkonzentration in beiden Gefäßen.
Diese Ergebnisse treten bei allen Tieren gleich auf, also auch bei den hysterektomierten (Cloe). Das heißt, es kommt p.p. nach einer Ocytocinkonzentration, die 2 Tage p.p. in der Vena cava caudalis noch deutlich über der in der Aorta abdominalis liegt, zu einem Absinken der Werte auf etwa 2 pg in beiden Gefäßen. Bis kurz vor einem Zyklusbeginn bleibt es bei dieser Basissekretion. Etwa 2 Tage vor der 1. Brunst, die äußerlich kaum sichtbar ist, erfolgt ein Anstieg der Ocytocinkonzentration in der Vena cava caudalis. Dieser erste Anstieg wird ab Zyklustag

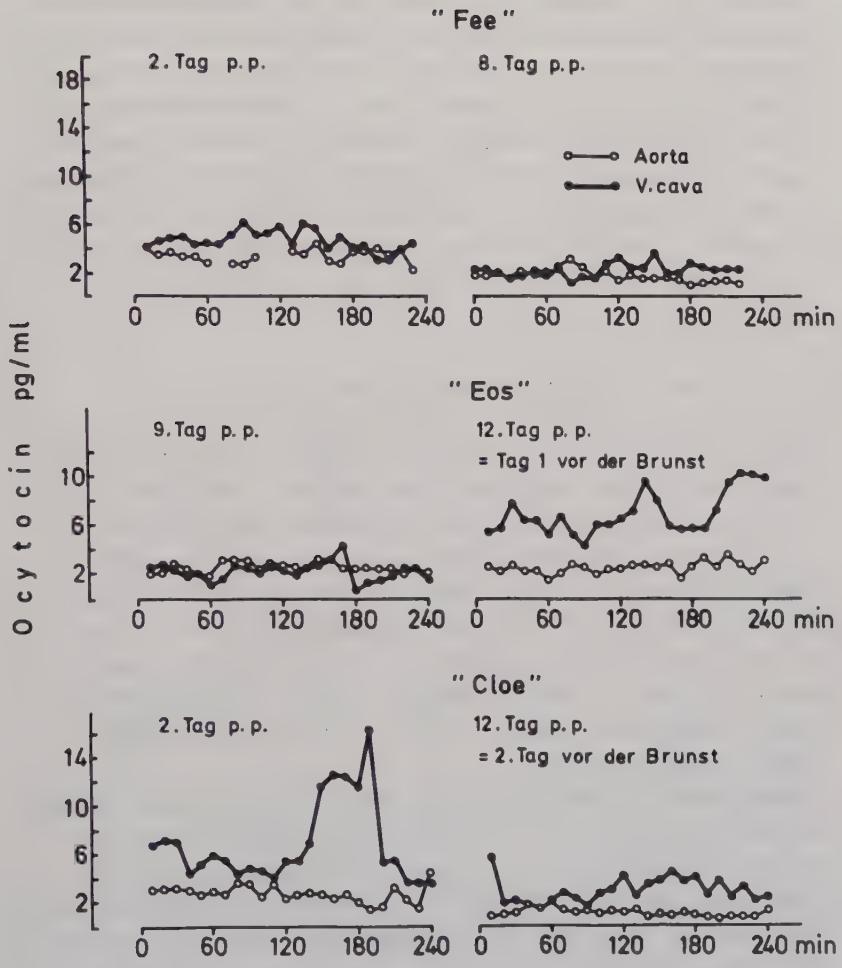


Abb. 17: Vergleich der Ocytocinwerte in der post Partum Phase zwischen Aorta und Vena cava von "Fee","Eos" und "Cloe"

2 deutlicher, es treten ausgeprägte Pulse auf, die in der Aorta abdominalis nicht erfaßt werden. Ein erster Höhepunkt der Ocytocinsekretion tritt bei den nicht hysterektomierten Tieren("Fee","Eos","Rolfi") etwa um den Zyklustag 8 auf. Nach einem vorübergehenden Absinken kommt es noch während der Lutealphase um Tag 15 zu einem erneuten Anstieg des Ocytocins mit deutlich ausgeprägten Pulsen, die wie schon während der gesamten Lutealphase eine ausgesprochen synchrone Beziehung zur Progesteronsekretion aufweisen. Wie im vorhergehenden Versuch gezeigt wurde, erfolgt die Ocytocinfreisetzung nach der Luteolyse ("Resana", "Rolfi") parallel zur PGFM-Sekretion, wobei diese Pulse die absolut höchsten Werte erreichen.

3.2.3. Auswirkung der Hysterektomie

Wie im vorhergehenden Abschnitt bereits erwähnt, verläuft die Phase bis zur ersten Brunst nach der Hysterektomie bei "Cloe" analog zu den Kontrolltieren. Es kommt am 14. Tag p.p. zum ersten Oestrus. Die Ocytocinwerte sind in der Vena cava caudalis 2 Tage vor derBrunst mehr als doppelt so hoch wie in derAorta abdominalis. Über 3-4 pg am 1. Tag nach dem Oestrus und etwa 7 pg am 4. Tag, über etwa 15 pg am 7. Tag, werden am 10. Tag nach der Brunst in der Vena cava caudalis die höchsten Werte gemessen (Abb. 18 und 19).
Dieser Anstieg der Ocytocinkonzentration verläuft anfangs wieder relativ synchron mit der hier früh einsetzenden Progesteronsekretion. So erreicht Progesteron schon 4 Tage nach der Brunst Werte von über 20 ng/ml. Diese Parallelität der Ocytocin - und Progesteronwerte tritt am 10. Zyklustag,besser am 10. Tag der Lutealphase, nicht mehr auf. Progesteron erreicht hier ein Niveau von knapp 60 ng/ml,mit geringen Schwankungen, wie überhaupt bis zu

diesem Zeitpunkt die pulsatile Freisetzung nur mit geringen Amplitudenschwankungen erfolgt.
Ab Tag 13 sinkt die Ocytocinkonzentration auf etwa 20 pg/ml an Tag 18 auf durchschnittlich 6 pg/ml, um an Tag 24 der Lutealphase deutlich unter 5 pg zu bleiben. Diese Grenze wird nicht mehr überschritten. Am 36. Tag der Lutealphase bzw. am 5o. Tag post partum wurden die Katheter entfernt. Mit diesem Absinken der Ocytocinwerte geht ein Anstieg in der Progesteronkonzentration einher, der am 24. Tag mit Spitzenwerten von über 200 ng/ml sein Maximum erreicht. Die Progesteronsekretion wurde bis zum Versuchsende nach über 50 Tagen post partum aufrecht erhalten.

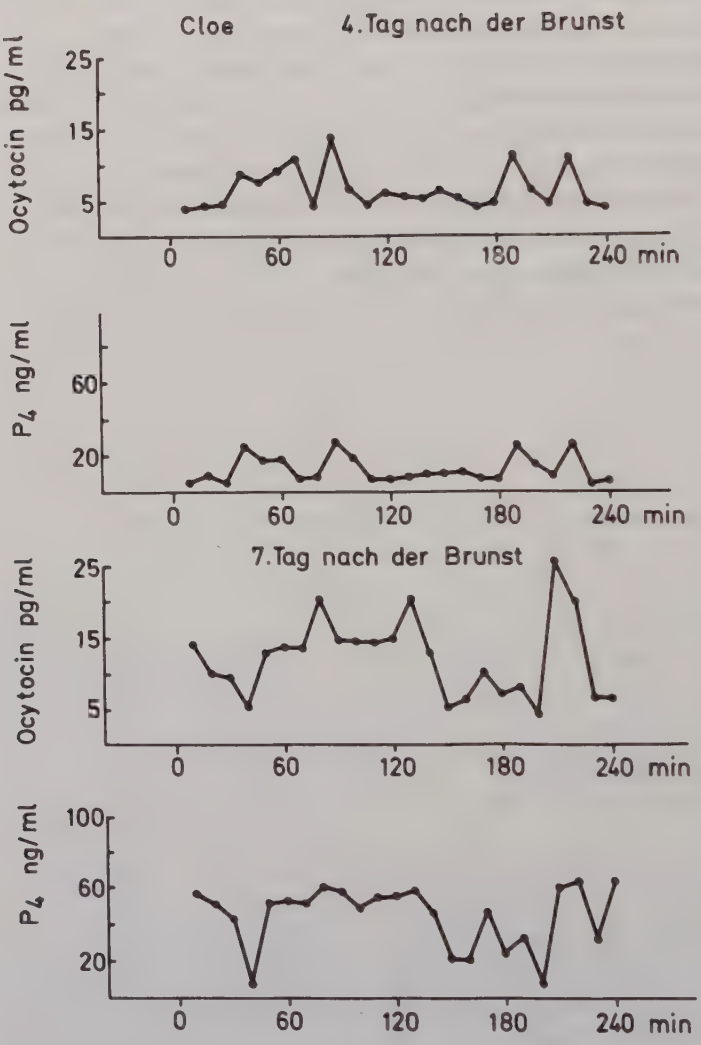


Abb. 18: Hormonprofile von "Cloe" 4 und 7 Tage nach der Brunst aus der Vena cava caudalis

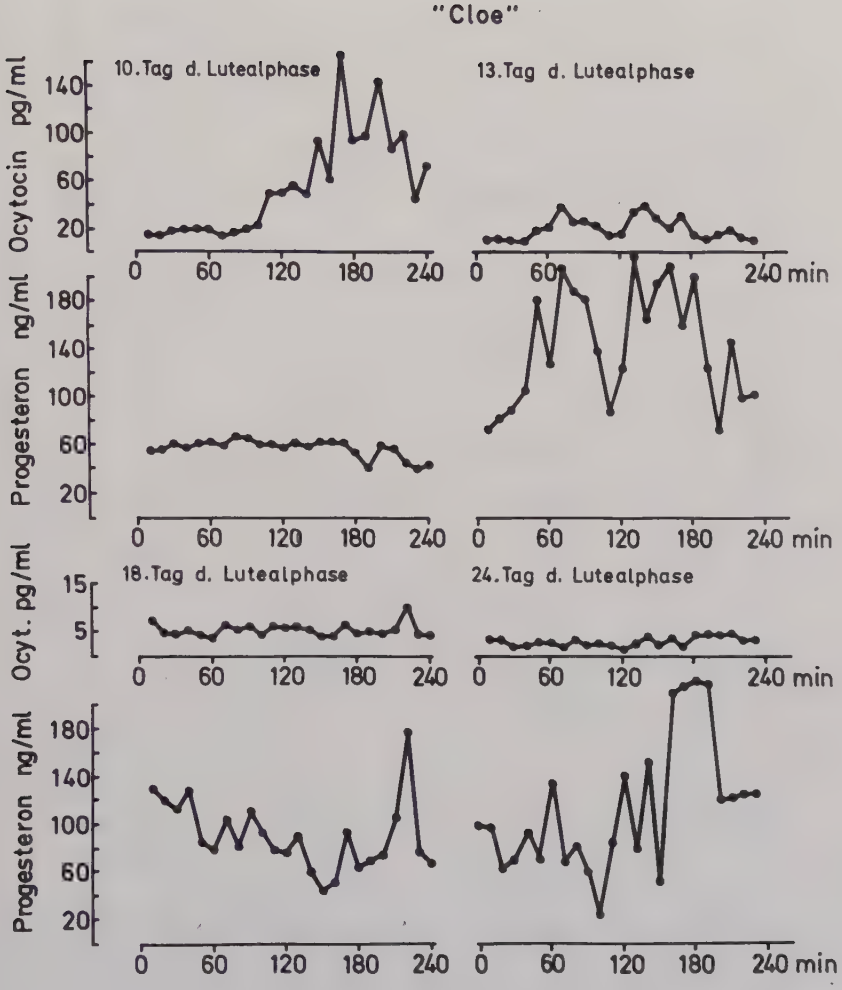


Abb. 19: Ocytocin - und Progesteronwerte gemessen an den Tagen 10, 13, 18 und 24 nach der Brunst bei "Cloe" (Vena cava)

3.3. Ergebnisse des Versuchs mit spezifischen Antikörpern gegen Ocytocin

Bei diesem Versuch reagierte die Kalbin "Kibitz" mit einer Zyklusverlängerung von 5 Tagen, die anderen behandelten Tiere hatten eine Zykluslänge wie sie vor dem Versuch ebenfalls auftrat, ebenso die Kontrolltiere. Da durch Mißerfolge bei der Operation, sowie eine irreparable Katheterverlegung nach 8 Versuchstagen, bei keinem Kontrolltier Proben der Vena cava caudalis über den gesamten Zyklus vorliegen, soll hier die Kalbin "Kuni" exemplarisch aus der Gruppe der behandelten, aber nicht mit einer Zyklusverlängerung reagierenden Kalbinnen, der Kalbin "Kibitz" gegenüber gestellt werden.

"Kibitz":

Die Abb. 20 - 22 zeigen, daß am Zyklustag 2 das freie (nicht gebundene) Ocytocin um einen Mittelwert von 1,4 pg mit einer Standardabweichung von $\pm$ 0,3 pg schwanken. Das Gesamt (freies und gebundenes)-Ocytocin liegt unter 4,3 pg/ml. Prostaglandin $F_{2\alpha}$ liegt in der Mehrzahl der Proben unter der Nachweisgrenze von 80 fmol/ml. An Zyklustag 12 zeigt sich im Profil des freien Ocytocin eine durchschnittliche Konzentration von 2,4 $\pm$ 0,4 pg mit geringen Schwankungen. Es sind keine Pulse zu erkennen. Das Gesamt-Ocytocin liegt bei etwa 40 pg/ml ebenfalls mit geringen Schwankungen. Beim Progesteron zeigt sich ein Profil wie es auch in einem physiologischen Zyklus zu diesem Zeitpunkt erscheint. $PGF_{2\alpha}$ liegt immer noch um bzw. unter der Nachweisgrenze von 80 fmol/ml.

Die Gesamt-Ocytocinmenge steigt bis zum Tag 14 auf Werte um 80 pg /ml an. Das freie Ocytocin schwankt um 2,3 $\pm$ 0,6 pg. $PGF_{2\alpha}$ liegt mit einzelnen Ausnahmen zwischen der Nachweisgrenze und 200 fmol/ml.

Abb. 20 - 23: Vergleich der Hormonprofile aus der Vena cava caudalis an bestimmten Zyklustagen bei "Kibitz"

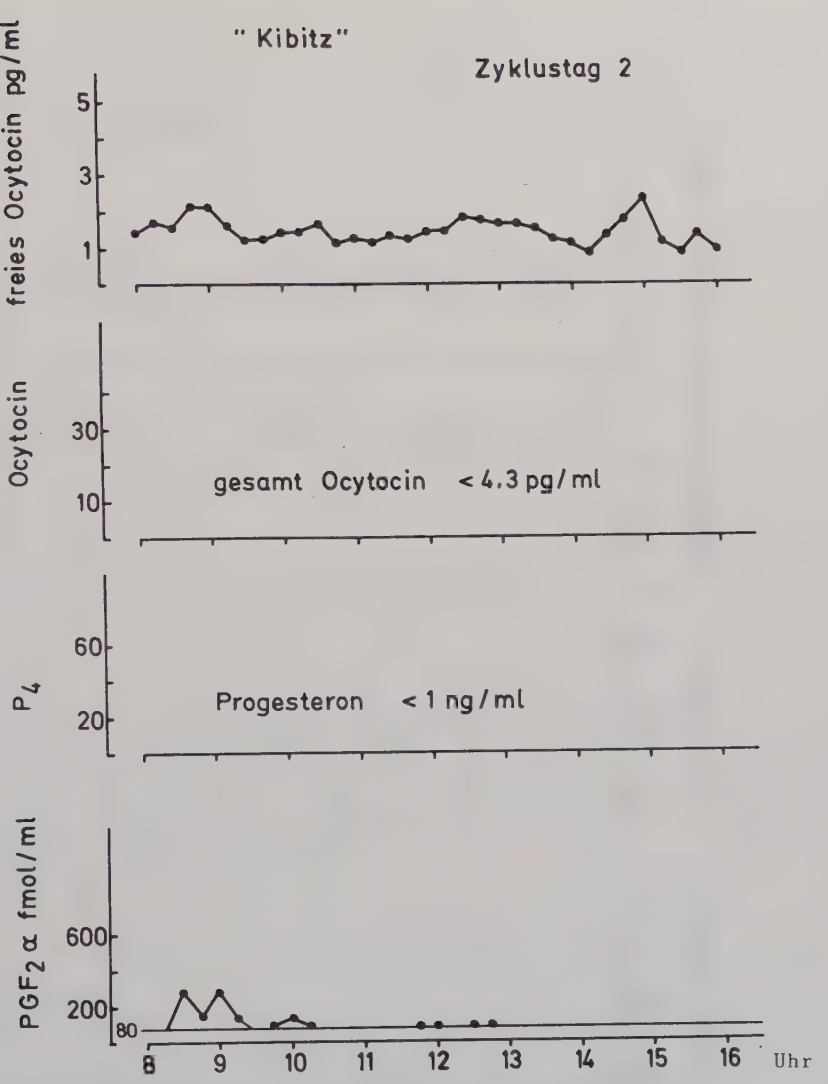


Abb. 20: Zyklustag 2

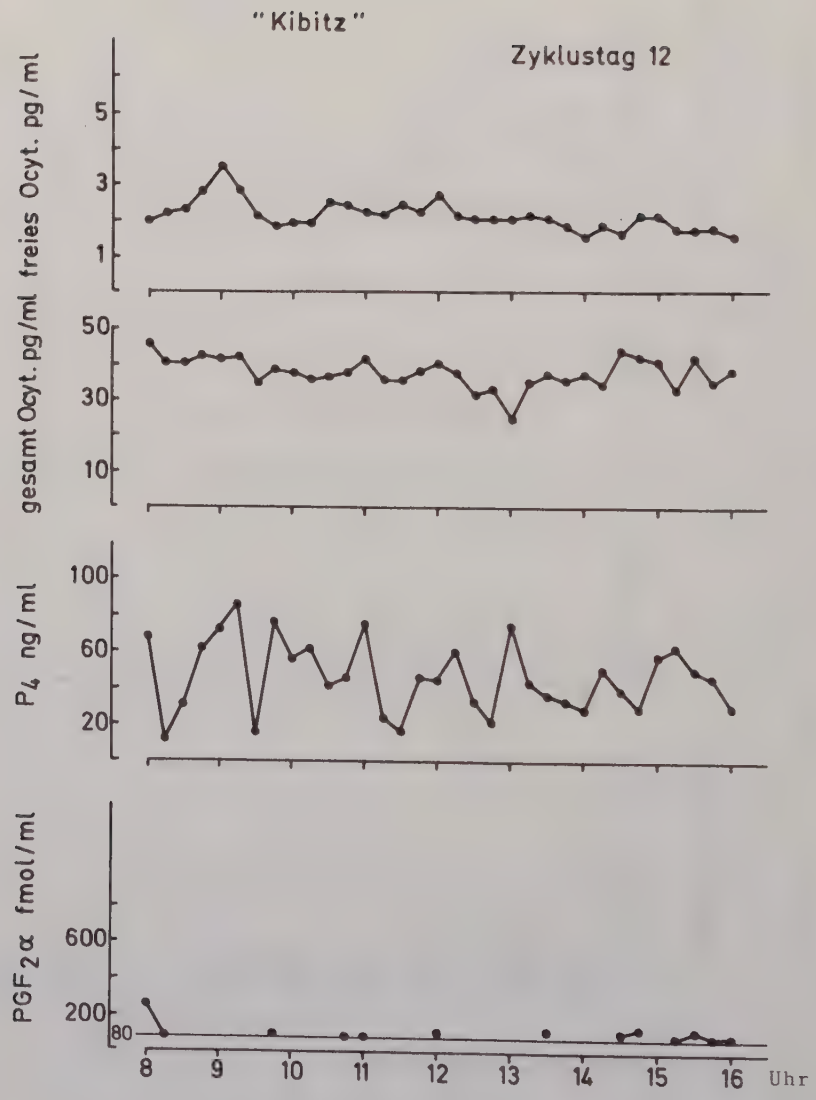


Abb. 21: Zyklustag 12

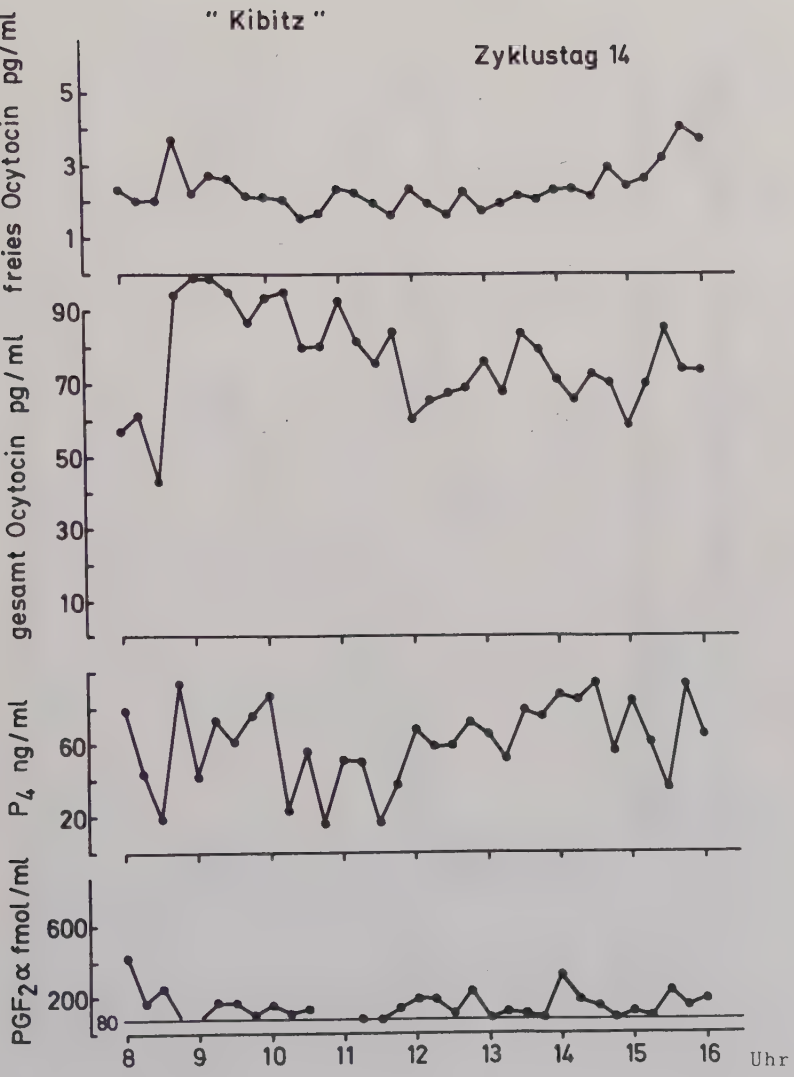


Abb. 22: Zyklustag 14

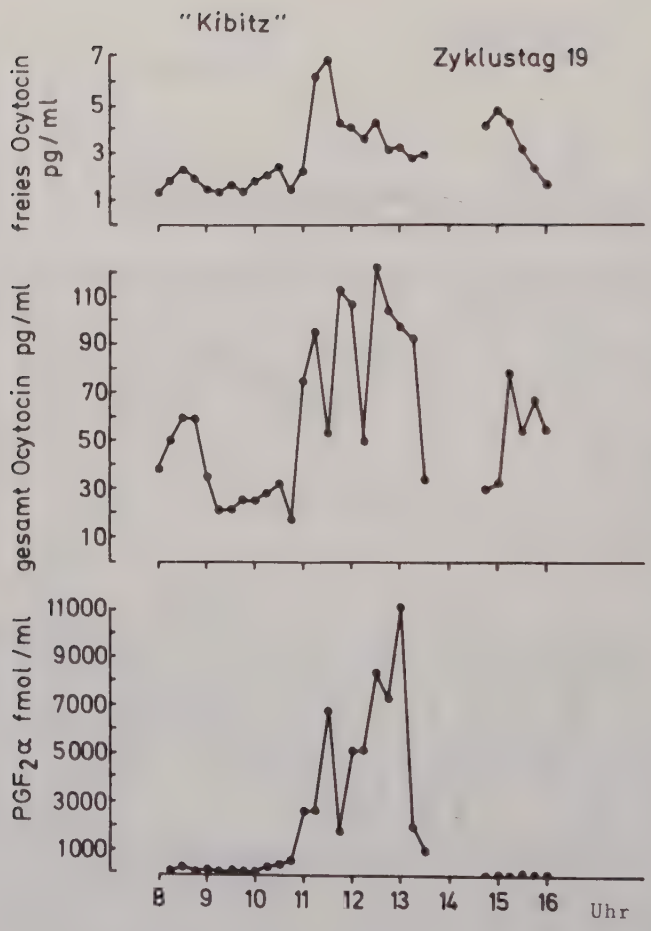


Abb. 23: Zyklustag 19

Dieses Bild bleibt bis zum Zyklustag 18 etwa so bestehen. Am Zyklustag 19 (Abb. 23) kommt es,nachdem Progesteron auf Werte unter 20 ng abgesunken ist, zu einer massiven Ocytocinfreisetzung, die sich in einem Anstieg im freien Ocytocin von unter 2 pg auf über 6 pg/ml dokumentiert. Im Profil des Gesamt-Ocytocin, das sich an Tag 18 bei etwa 20 - 25 pg/ml bewegte, kommt es zu mehreren Gipfeln mit Werten über 90 pg. Die Pulse beim Ocytocin werden von $PGF_{2\alpha}$ -Freisetzungen begleitet, mit Spitzen, wie sie vorher noch nie gemessen wurden (bis 11.180 fmol/ml). Deutliche äußere Brunstanzeichen traten 4 Tag später auf (Zykluslänge vor dem Versuch (n=3) Ø 18 Tage, Zykluslänge im Versuch 23 Tage).

Im Vergleich hierzu fällt auf, daß bei der Kalbin "Kuni" (Abb. 24 - 27) nach etwa gleichem Zyklusbeginn, bereits am 5. Zyklustag freie Ocytocinwerte von 6,0 $\pm$ 1.2 pg/ml gemessen wurden. Das $PGF_{2\alpha}$ liegt zu diesem Zeitpunkt noch größtenteils unter der Nachweisgrenze. Am Zyklustag 13 liegt die Konzentration des freien Ocytocin bei 3,5 $\pm$ 0,8 pg, die Gesamt-Ocytocinkonzentration, bei erheblichen Schwankungen zwischen 80 und 180 pg/ml. Die Profile von Ocytocin und Progesteron sind nicht so ausgesprochen parallel wie in den vorhergehenden Versuchen. Die $PGF_{2\alpha}$ -Konzentrationen haben zu diesem Zeitpunkt bereits 200 fmol/ml überschritten und erreichen Spitzenwerte bis zu 4oo fmol/ml.

Am Zyklustag 17 kommt es im Verlauf der frequenten Entnahmeperiode zu einem Anstieg der Ocytocinkonzentration über etwa 3 Stunden, sowohl in der nicht gebundenen Fraktion von etwa 2 - 3 pg auf 6 - 8 pg, als auch parallel hierzu in der Gesamtkonzentration von 40 - 50 pg auf 100 - 120 pg /ml bei gleichbleibend hohem Progesteronspiegel. Dieser Ocytocinanstieg wird von einem $PGF_{2\alpha}$ Puls begleitet, dessen Spitze 3970 fmol/ml erreicht. Dieses Phänomen wiederholt sich am Zyklustag 18 mit noch

Abb. 24 - 27: Vergleich der Hormonprofile aus der Vena cava caudalis von "Kuni" an bestimmten Zyklustagen

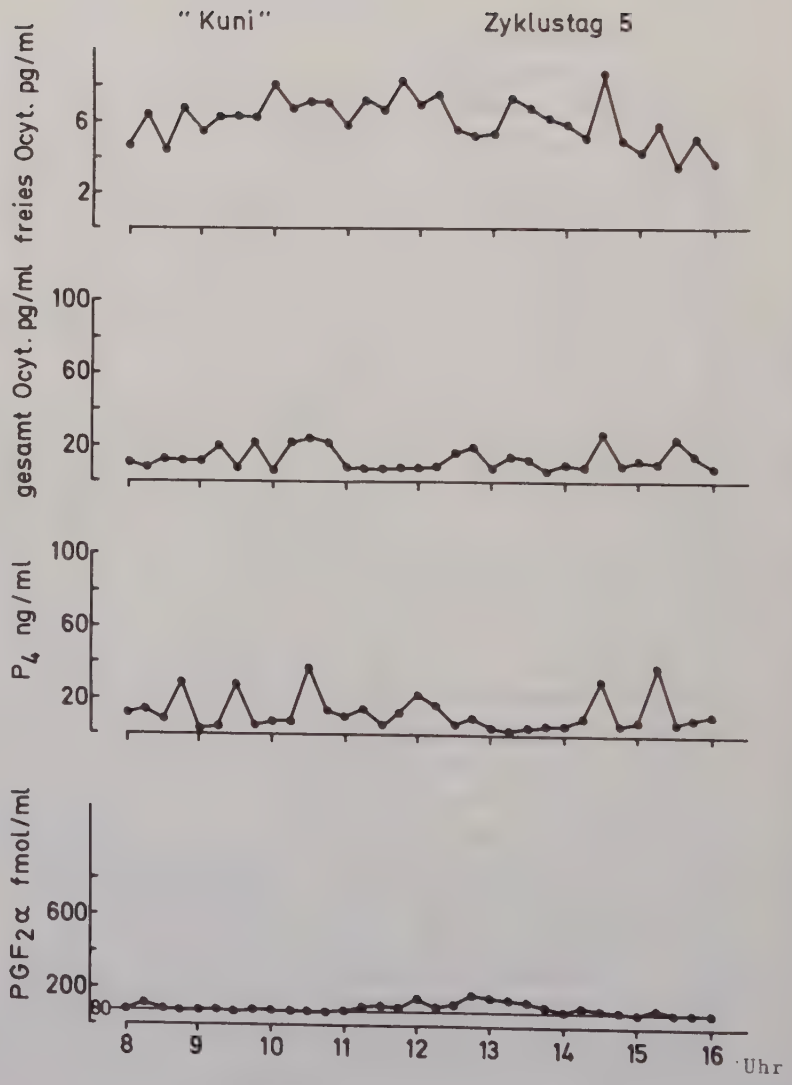


Abb. 24 Zyklustag 5

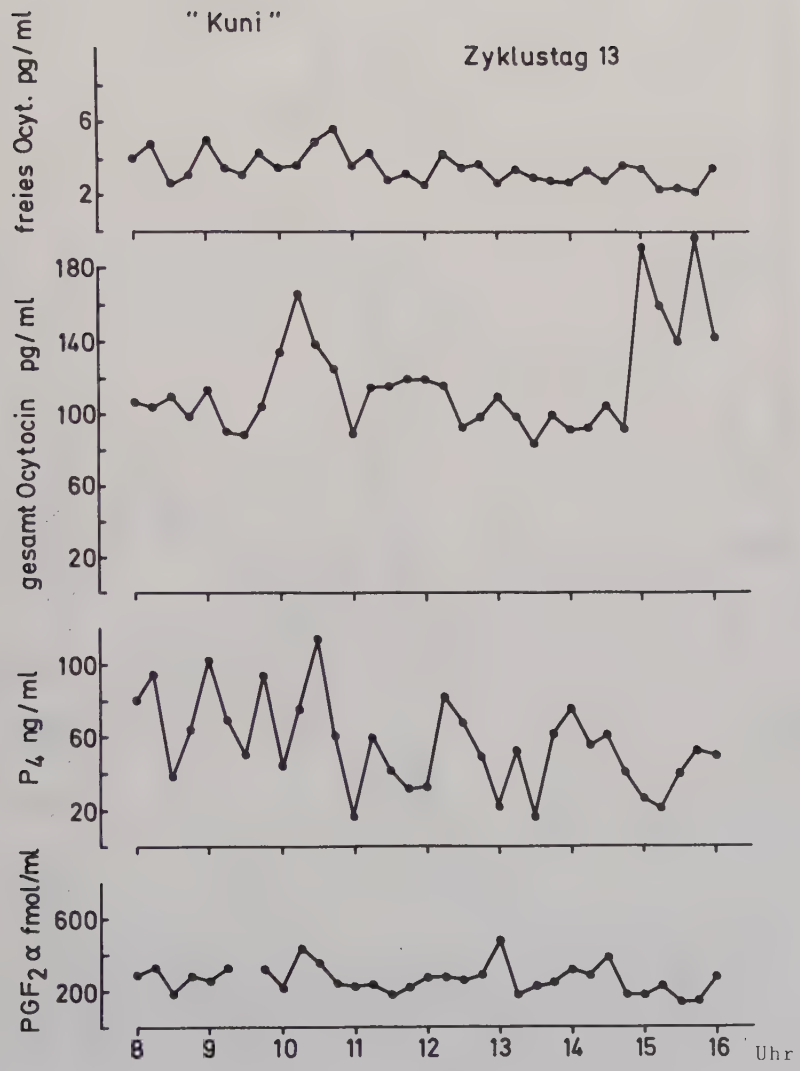


Abb. 25: Zyklustag 13

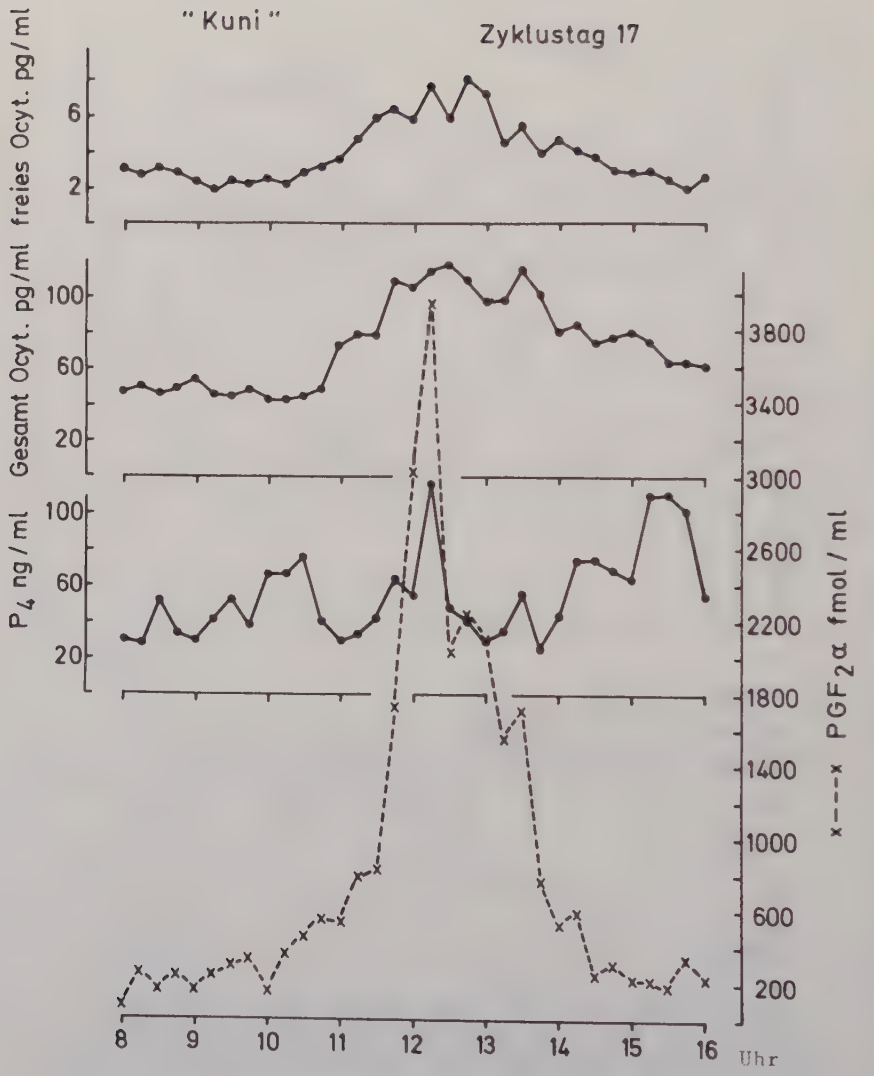


Abb. 26: Zyklustag 17

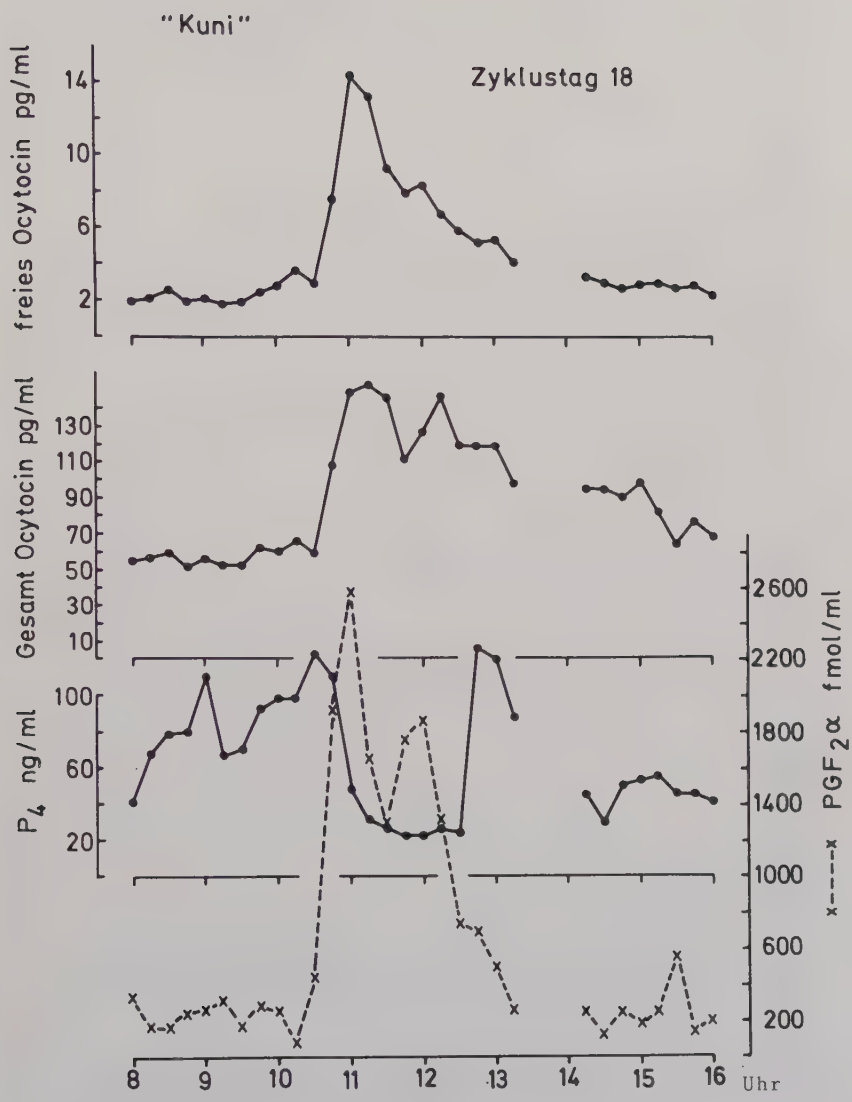


Abb. 27: Zyklustag 18

höheren Ocytocinkonzentrationen (über 14 pg freies, über 150 pg Gesamt-Ocytocin). Parallel hierzu läuft eine $PGF_{2\alpha}$-Freisetzung mit einer Spitzenkonzentration von über 2500 fmol/ml. Vier Tage später kommt es zum Oestrus (Zykluslänge vor dem Versuch (n=3) Ø 22 Tage, im Versuch 22 Tage).

Bei den bisher beschriebenen Profilen (Abb. 20 - 27) handelt es sich um Proben aus der Vena cava caudalis. Um einenbesseren Vergleich der Absolutkonzentration im Blutplasma zu erhalten, wurden die einzelnen Hormone auch in Proben aus der Vena jugularis bzw. der Aorta abdominalis bestimmt (Tab.3).

Hier werden die Tiere in 3 Gruppen aufgeteilt.

1. Mit Antikörpern gegen Ocytocin behandelt und mit verlängertem Zyklus reagiert;
2. mit Antikörpern gegen Ocytocin behandelt und nicht mit Zyklusverlängerung reagiert;
3. mit Kontrollplasma behandelt.

Die Kalbinnen "Kerina" und "Rita" wurden wegen zu geringer Probenanzahl nicht berücksichtigt. Bei den Werten in Tabelle 3 handelt es sich um Mittelwerte mit Standardabweichung der Proben aus zweieinhalbstündigen Entnahmeserien an den Behandlungstagen jeweils vor den Behandlungen. Demnach weist "Kibitz" durchweg freie Ocytocinkonzentrationen um 2 pg/ml mit geringen Schwankungen auf. Dieses Ergebnis deckt sich mit den Ergebnissen aus der Vena cava caudalis exakt.

Es besteht zwischen den Mittelwerten der einzelnen Tage (12,15,18) zwischen derVena cava caudalis und der Aorta abdominalis kein signifikanter Unterschied in der Konzentration des freien Ocytocin.

Die Progesteronwerte liegen auf dem Niveau der nicht mit Antikörpern gegen Ocytocin behandelten Tiere. Auffallend ist, daß bei den Tieren, die nicht reagierten, am Zyklusanfang freie Ocytocinkonzentrationen erreicht werden wie bei den Kontrolltieren.

Tab.3: Ocytocin - und Progesteronwerte aus zweieinhalbstündigen Entnahmeserien aus der Vena jugularis an verschiedenen Zyklustagen.

Zyklustag	Behandelt verlängerter Zyklus	Behandelt aber keine Zyklusverlängerung				Kontrolltiere		
	Kibitz	Rispe	Kuni	Katja	Ø	Riola	Kosa	Ø
Ocytocin pg/ml								
3	(n=2) 0,9±0,1	-	3,7±0,8	1,9±0,3	2,8±0,9	1,6±0,3	2,8±0,8	2,2±0,6
6	(n=2) 0,8±0,2	-	4,6±1,2	3,4±0,6	4,0±0,6	3,4±0,6	4,3±0,8	3,9±0,5
9	2,0±0,3	4,0±1,5	2,4±0,6	2,1±0,3	2,8±0,8	5,0±1,3	5,1±0,7	5,1±0,1
12	2,1±0,8	2,7±0,8	1,5±0,3	1,9±0,3	2,0±0,5	4,0±0,6	4,0±0,6	4,0±0,0
15	1,6±0,2	3,2±0,6	1,9±0,3	2,9±0,6	2,7±0,5	2,8±0,6	2,7±0,3	2,8±0,1
18	1,2±0,2	2,0±0,3	1,9±0,3	2,3±0,5	2,1±0,2	2,6±0,3	3,0±0,5	2,8±0,2
Progesteron ng/ml								
3	-	-	-	1,2±2,2	-	0,3±0,1	0,4±0,1	-
6	-	-	-	3,4±0,1	-	0,7±0,1	3,0±0,3	-
9	4,6±0,9	6,1±0,9	7,0±1,3	6,9±0,3	6,7±0,4	3,9±0,3	6,1±0,6	5,0±1,1
12	5,1±0,6	7,6±0,8	8,0±0,9	7,4±1,1	7,7±0,3	6,0±0,3	7,4±0,5	6,7±0,7
15	6,3±0,8	9,2±1,2	9,0±0,6	8,3±1,1	8,8±0,4	6,4±0,6	6,9±0,8	6,7±0,3
18	6,4±1,2	7,6±0,6	9,8±1,6	7,5±1,1	8,3±1,1	6,9±0,5	0,5±0,1	

Erst ab der Mitte des Zyklus sinken die Ocytocinkonzentrationen ab, erreichen aber nur ausnahmsweise das Niveau von "Kibitz". In dieser Gruppe werden zugleich die höchsten durchschnittlichen Progesteronkonzentrationen gemessen, was sich vor allem gegen Ende des Zuklus (Tag 15 und 18) deutlich zeigt.

3.4. Interaktionen und Effekte von verschiedenen Hormonapplikationen

3.4.1. Effekte auf die Ocytocinsekretion nach Cloprostenolinjektionen bei weiblichen Kastraten

Wie Abb. 28 und 29 mit Tab. 4 zeigen, erfolgt auch bei Kastraten eine Basissekretion (gemessen in der Vena jugularis externa) von Ocytocin um 1,1 pg/ml mit Ausnahme von "Fee", die 3,1 $\pm$ 0,6 pg aufweist. Innerhalb von 2 - 20 Minuten kommt es bei "Fee","Cloe",Bora" und "Julia" zu einem mäßigen Anstieg der Ocytocinkonzentration von 0,4 - 2,4 pg/ml im Mittelwert. "Eos", die den höchsten Anstieg auf 10,4 pg/ml zeigt, wurden 24 Stunden vor diesem Versuch 100 µg Östradiol-17-ß intravenös appliziert. Sie zeigte während des Versuchs deutliche Brunstsymptome.

Tab.4: Ocytocinkonzentration in der Vena jugularis vor und nach Clporostenolapplikation

Tier	Mittelwert vor der Inj. pg/ml	Mittelwert nach der Inj. pg/ml	Höchstwert
Bora	n=7 0,9 $\pm$ 0,1	n=17 1,3 $\pm$ 0,3	1,9
Cloe	n=7 1,1 $\pm$ 0,1	n=17 1,9 $\pm$ 0,5	3,1
Fee	n=7 3,1 $\pm$ 0,6	n=17 5,5 $\pm$1,2	7,6
Julia	n=6 1,2 $\pm$0,5	n=17 1,6 $\pm$ 0,4	2,4
Eos	n=6 1,2 $\pm$ 0,2	n=17 6,3 $\pm$ 2,4	10,4

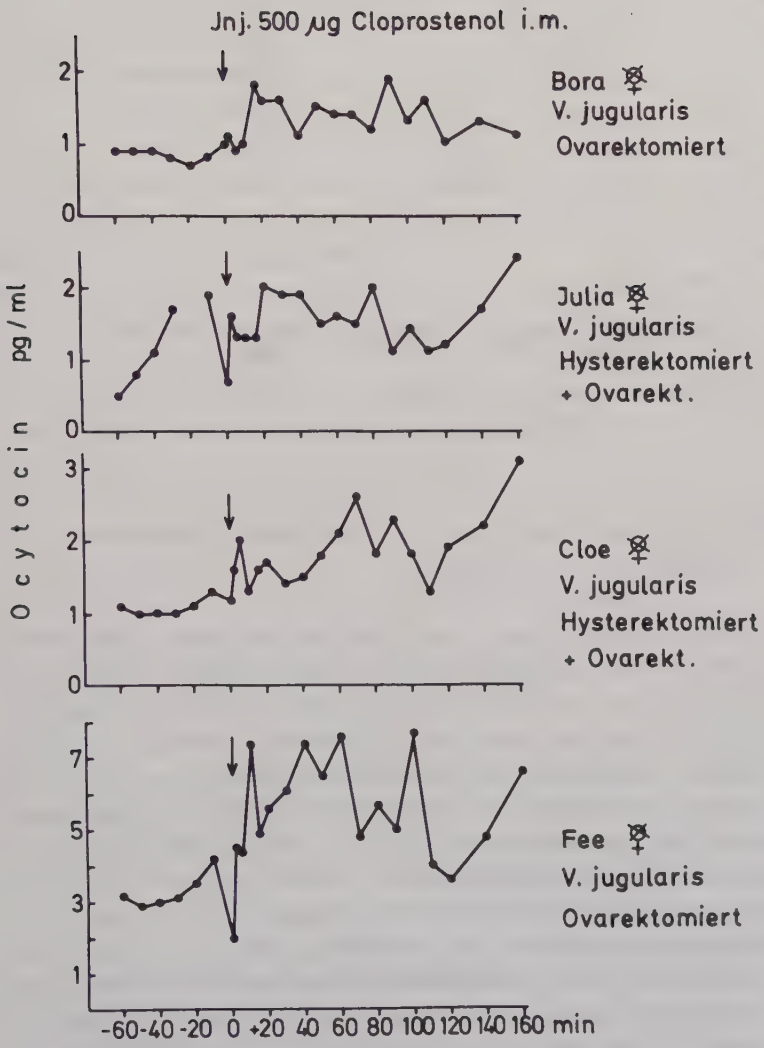


Abb. 28

Abb. 28 und 29: Ocytocinkonzentration in der Vena jugularis bei weiblichen Kastraten nach Cloprostenolinjektion

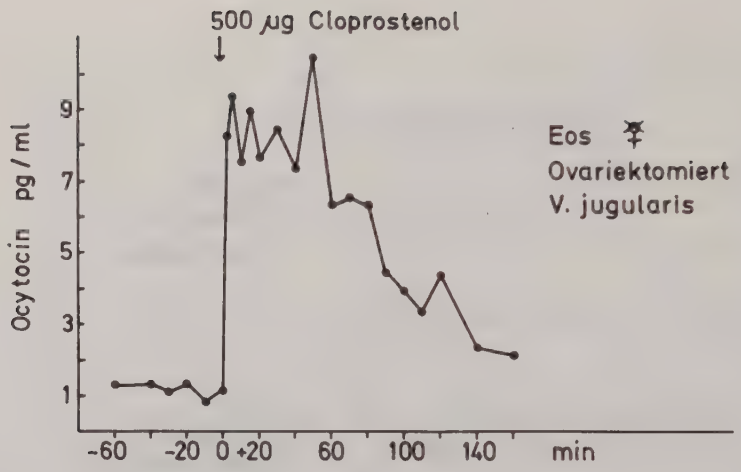


Abb.29: Eos nach Cloprostenolinjektion

3.4.2. Reaktionen auf Ocytocininjektionen an bestimmten Zyklustagen

Die Ocytocinprofile (Abb. 30 - 34) zeigen, daß 1 I.E. exogenes Ocytocin, verabreicht in die Vena jugularis externa, 2 Minuten später in derVena cava caudalis zu einer Konzentration von etwa 38 pg/ml führt (Zicke), unabhängig vom Zyklustag. Verabreicht man die gleiche Menge Ocytocin in die Aorta abdominalis, so führt das zu den unterschiedlichsten Konzentrationen in der Vena cava caudalis.
So ist bei 3-maliger Applikation im Abstand von 1 bzw. 2 Stunden der erste Puls immer der kleinste. Die Absolutwerte schwanken zwischen 65 und 140 pg/ml.
War bei "Zicke" die Ausgangskonzentration in der Vena cava caudalis sowohl am Tag 6 als auch am Tag 12 etwa gleich 2,9 bzw. 2,1 pg, bevor die Applikation von 1 I.E. Ocytocin erfolgte, so waren vor dem Verabreichen vom 2,5 I.E. unterschiedliche Ausgangskonzentrationen zu verzeichnen.

Am Tag 6 steigt die Konzentration von 2,8 pg/ml auf 91 pg/ml, an Zyklustag 12 wird zufällig ein physiologischer Puls getroffen, hier erfolgt ein Anstieg von 21,8 pg auf 300 pg/ml.
Werden 2,5 I.E. exogenes Ocytocin in die Vena jugularis am Tag 6 injiziert, so zeigt sich kein Einfluß auf die Sekretion von Progesteron und $PGF_{2\alpha}$. Den Progesteronanstieg 30 Min. post injektionem interpretiere ich als physiologisch. Denn bei der Progesteronsekretion fällt auf, daß während des Versuchs 3 Progesteronkonzentrationsanstiege, unabhängig von der Ocytocin Injektion, ablaufen. Diese Schübe erfolgen im Abstand von etwa 70 Minuten (nach 40, 110, 180 Minuten).
Wird nur 1 I.E. Ocytocin an Tag 6 injiziert, so kommt es sowohl bei "Zicke" als auch bei "Arche" zu einer ersten geringen Progesteronfreisetzung nach 4 Minuten, dieser ersten Freisetzung folgt nach weiteren 4 - 6 Minuten eine zweite, die unterschiedlich hoch in der Konzentration und von variabler Dauer ist. Beim $PGF_{2\alpha}$ erkennt man keine deutliche Reaktion.
Dieser Versuch wurde am Tag 12 wiederholt. Hier sieht man deutlich die Abhängigkeit der Reaktion vom Verlauf der physiologischen Freisetzung. Die Injektion von 1 I.E. Ocytocin erfolgte bei "Zicke" zufällig zu einem Zeitpunkt, an dem 10 Minuten zuvor ein Progesteronpuls erscheint. Die abfallende Tendenz wird 4 Min. post injektionem kurz unterbrochen und geht dann weiter. Die zweite Injektion (2,5 I.E.)deckt sich mit einem physiologischen Anstieg in der Progesteron - und Ocytocinkonzentration (70 Min. nach dem ersten Puls). Es kommt zu einer massiven Progesteronsekretion (292 ng/ml), die 8 Minuten später auf 40 ng/ml absackte, um anschließend wieder das Ausgangsniveau zu erreichen.

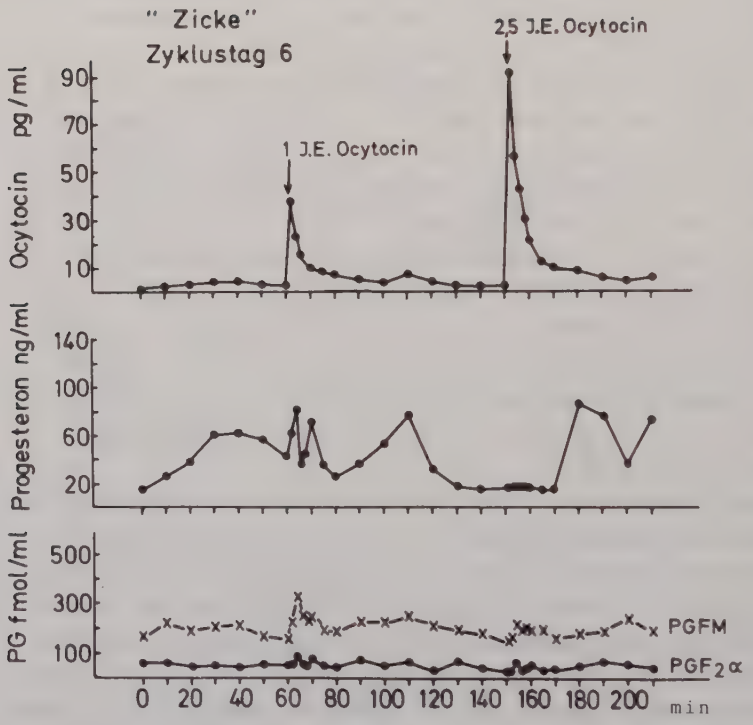


Abb.30: 2-malige Ocytocininjektion bei "Zicke" an Zyklustag 6, Proben aus der Vena cava caudalis

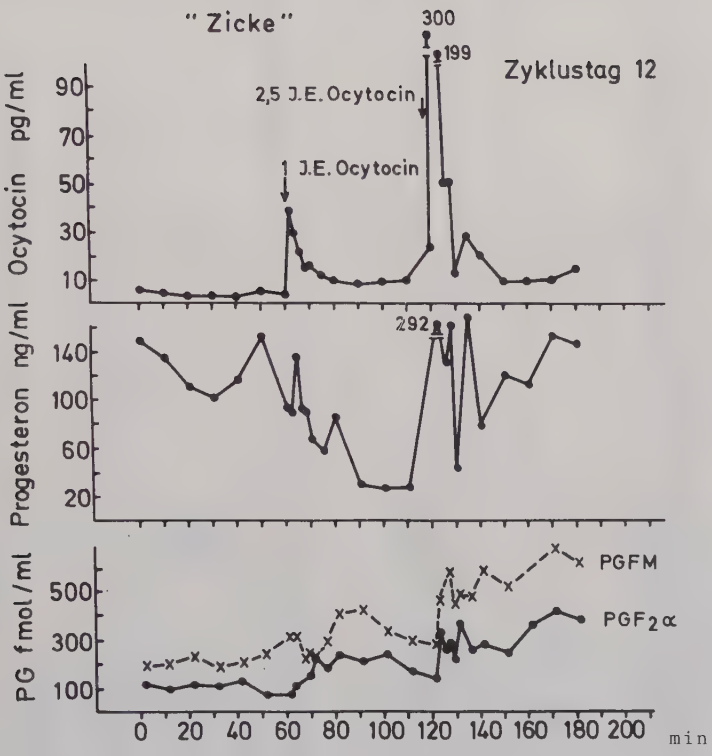


Abb. 31: 2-malige Ocytocininjektion bei "Zicke" an Zyklustag 12, Proben aus der Vena cava caudalis

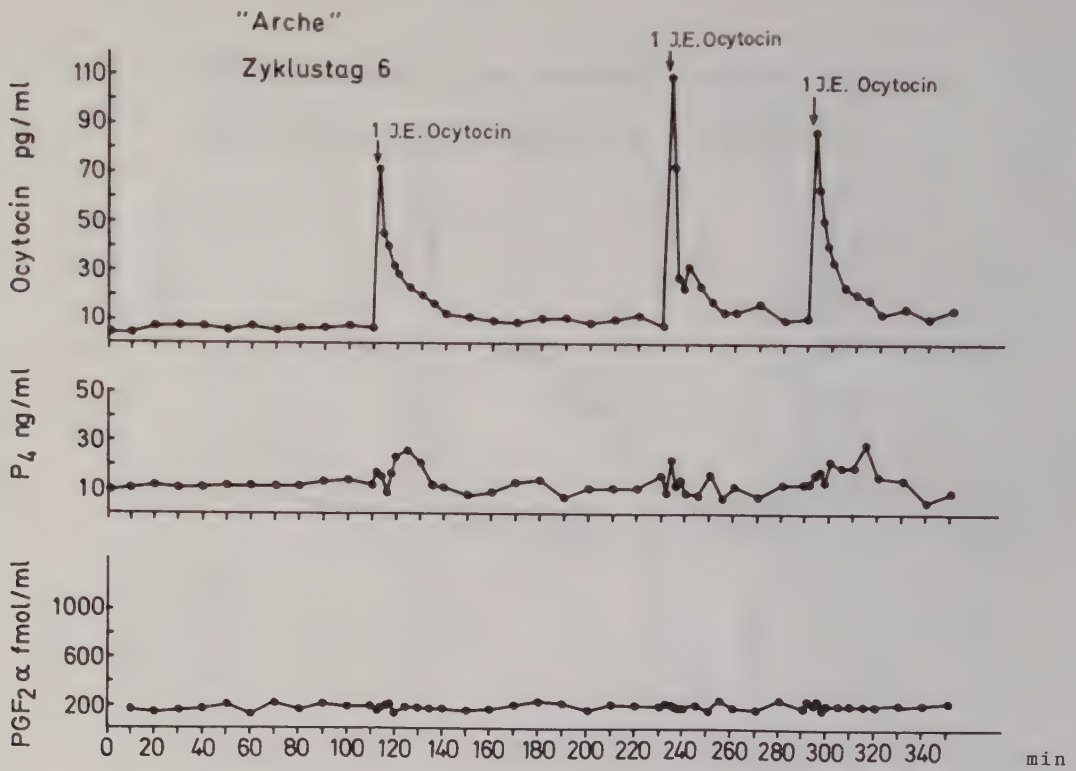


Abb. 32: Auswirkungen einer Ocytocinapplikation (3x 1 I.E.) an Tag 6 (Arche) auf die Hormonkonzentrationen in der Vena cava caudalis

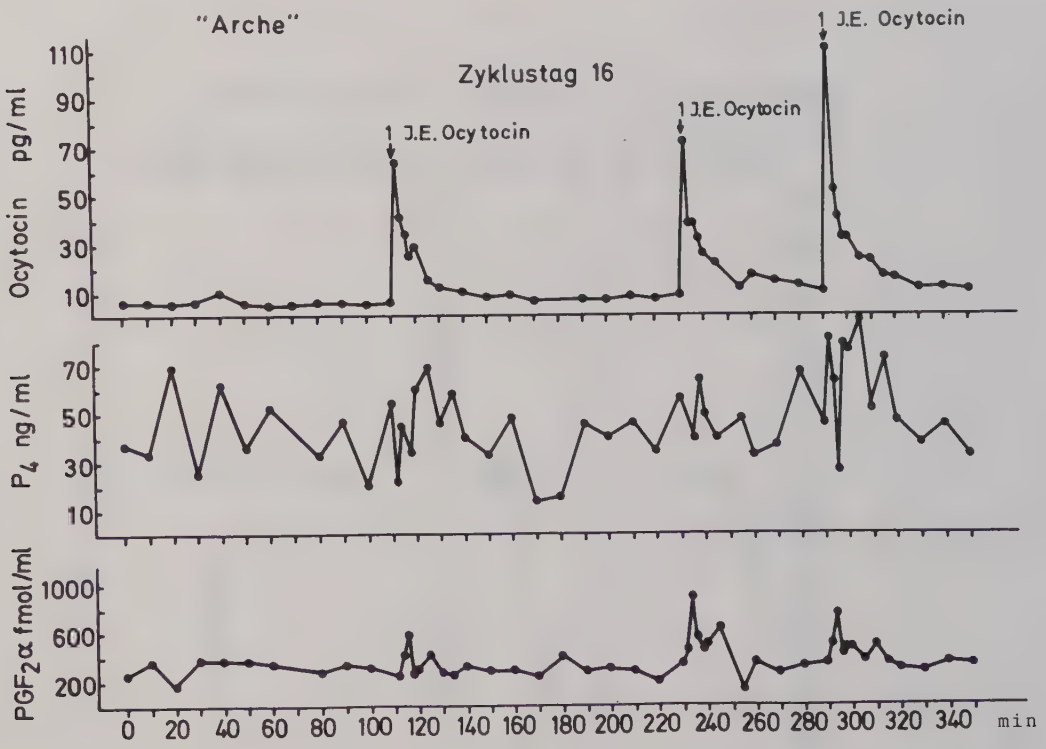


Abb. 33: 3x1 I.E. Ocytocin appliziert an Zyklusatag 16 (Arche)
Proben aus derVena cava caudalis

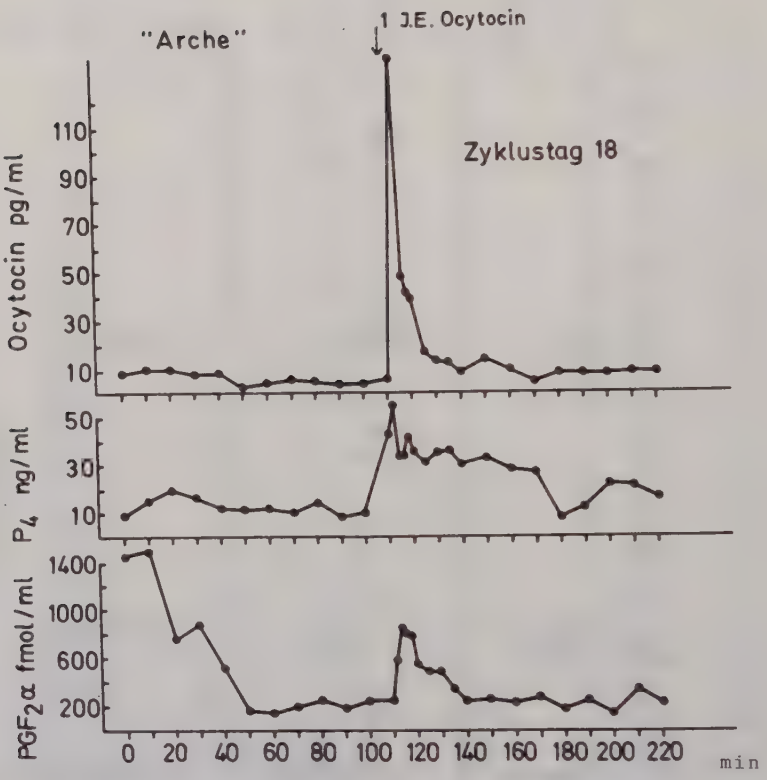


Abb. 34: Auswirkung 1 I.E. Ocytocin auf die Hormonkonzentrationen an Zyklustag 18 (Arche) in der Vena cava caudalis

Bei $PGF_{2\alpha}$ zeigt sich kurzfristig nach der ersten Injektion keine Reaktion. Sie führt jedoch 10 Minuten post injektionem zu einer Niveauverschiebung im Profil von 100 auf 200 fmol/ml. Die zweite Injektion hat eine weitere Erhöhung der Sekretion auf Spitzenwerte von 350 - 400 fmol zur Folge.
Erfolgt die Ocytocininjektion am Zyklustag 16 (Arche), so gilt für Progesteron das bisher gesagte, wobei auch hier die Progesteronfreisetzung kaum die Spitzenwerte in der Kontrollphase übersteigt. Beim $PGF_{2\alpha}$ kommt es an Zyklustag 18 dagegen 6 Minuten post injektionem zu einem breit angelegten Puls mit einer Amplitude von 600 fmol über dem Ausgangswert. Er erreicht aber damit nicht die Konzentration wie sie am Anfang der Kontrollphase (mit über 1 400 fmol/ml) gemessen wurde. Progesteron steigt post injektionem leicht an, wobei hier eine Verwechslung der Proben nicht auszuschließen ist. Die Probe vor der Injektion (nach 110 Minuten) stimmt mit der Kontrollphase nicht überein. Nach der Ocytocinapplikation kommt es in der folgenden Stunde zu einer Niveauerhöhung der Progesteronsekretion, die über dem Doppelten der Kontrollphase liegt ($n=11$, $\bar{X}=12{,}6$ ng zu $n=11$, $\bar{X}=32{,}4$ ng).
Bei "Lunte", die eine relativ schlechte Katheterposition aufwies, stimmen die oben aufgeführten Ergebnisse überein. Bei dieser Kalbin wurde an Tag 17 (Abb. 35) ein physiologischer Ocytocinpuls erfaßt, der in der Dauer (über 1 Stunde) und in der Amplitudenhöhe beeindruckte (146 pg bei einer Ausgangskonzentration in der Kontrollphase von 4 - 8 pg).
Parallel zu diesem Ocytocinschub erhöht sich die Progesteronkonzentration von etwa 6 ng auf über 10 ng. Am deutlichsten jedoch fällt der Anstieg in der PGFM-Konzentration auf. In der Kontrollphase liegt die Konzentration in der Regel unter 200 fmol, dann erfolgt während des Ocytocinanstiegs ein dreigeteilter PGFM Schub, der eine

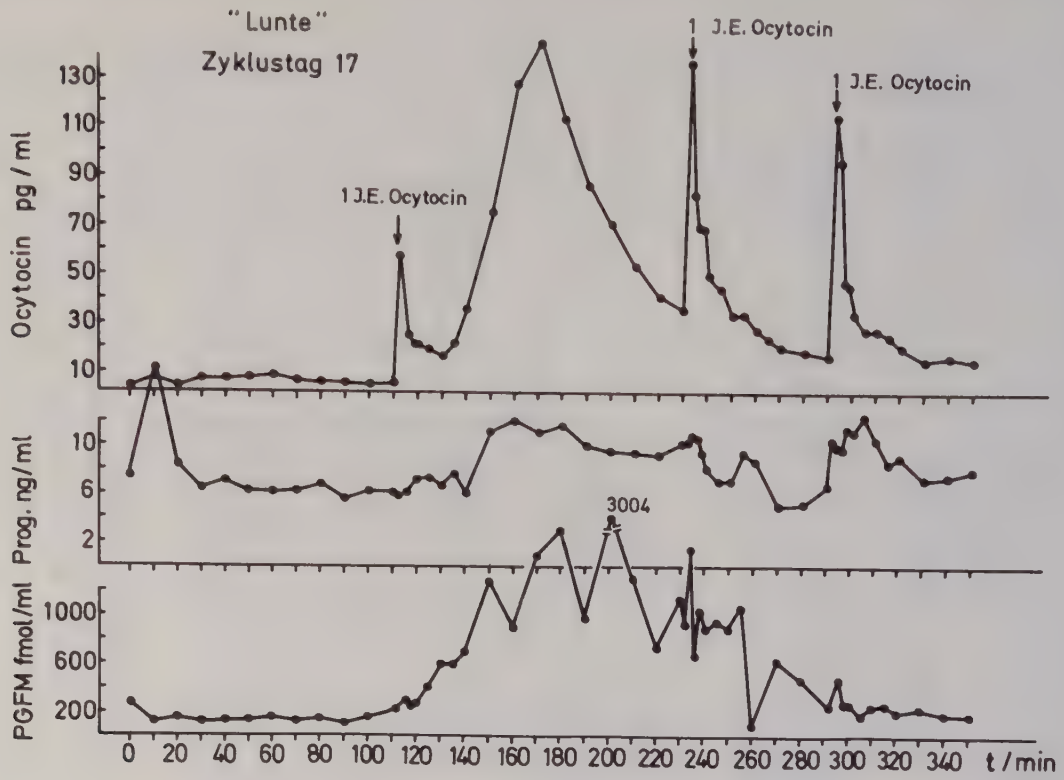


Abb. 35: Ocytocin- Progesteron- und PGFM-Werte in der Vena cava caudalis an Zyklustag 17 nach 3-maliger Applikation von 1 I.E.Ocytocin (Lunte)

Konzentration von 3 000 fmol erreicht. Nach vergleichsweise minimalen Anstiegen auf die Ocytocininjektionen fällt die PGFM Konzentration wieder auf unter 2oo fmol ab.
Es sei hier daran erinnert, daß bei "Rolfi" am Zyklustag 17 ein ähnlich hoher Ocytocinpuls gemessen wurde (Abb. 12).

3.4.3. Wirkung der Infusion eines FSH-Präparats am Zyklustag 7

Wie schon auf S. 39 erwähnt, war das verwendete FSH-Präparat (NIH-FSH-S_4) stark mit LH kontamiert. So ergab die LH-Bestimmung in der Kontrollphase über 2 Stunden einen Mittelwert von 0,6 $\pm$ 0,3 ng/ml, am Ende der Infusion wurden 8,3 ng/ml gemessen (Abb. 36). Es kommt 40 Minuten nach der Infusion zu einem rapiden Anstieg der Ocytocin- und Progesteronkonzentrationen, die nach etwa einer Stunde wieder auf die Ausgangswerte abgesunken sind. Zum Zeitpunkt der Konzentrationserhöhung bei Ocytocin und Progesteron erfolgt ein kurzfristiger, geringgradiger Anstieg der $PGF_{2\alpha}$ -Konzentration. Aus den Profilen kann nicht ersehen werden, ob die Konzentrationsveränderungen auf der FSH-Infusion oder der LH-Kontamination beruhen.

3.4.4. Auswirkungen einer HCG-Injektion

Nach intravenöser Verabreichung von 1 000 I.E. HCG (Primogonyl^R, Abb. 37) kommt es nach etwa 40 Minuten zu einem Ocytocin-Gipfel in der Vena cava caudalis, der 50 Minuten post injektionem seinen Höhepunkt erreicht. Diesem exponierten Gipfel läuft ein kleinerer etwa 20 Minuten post injektionem voraus. Während der Ocytocinfreisetzung kommt es zu einer Progesteronausschüttung,

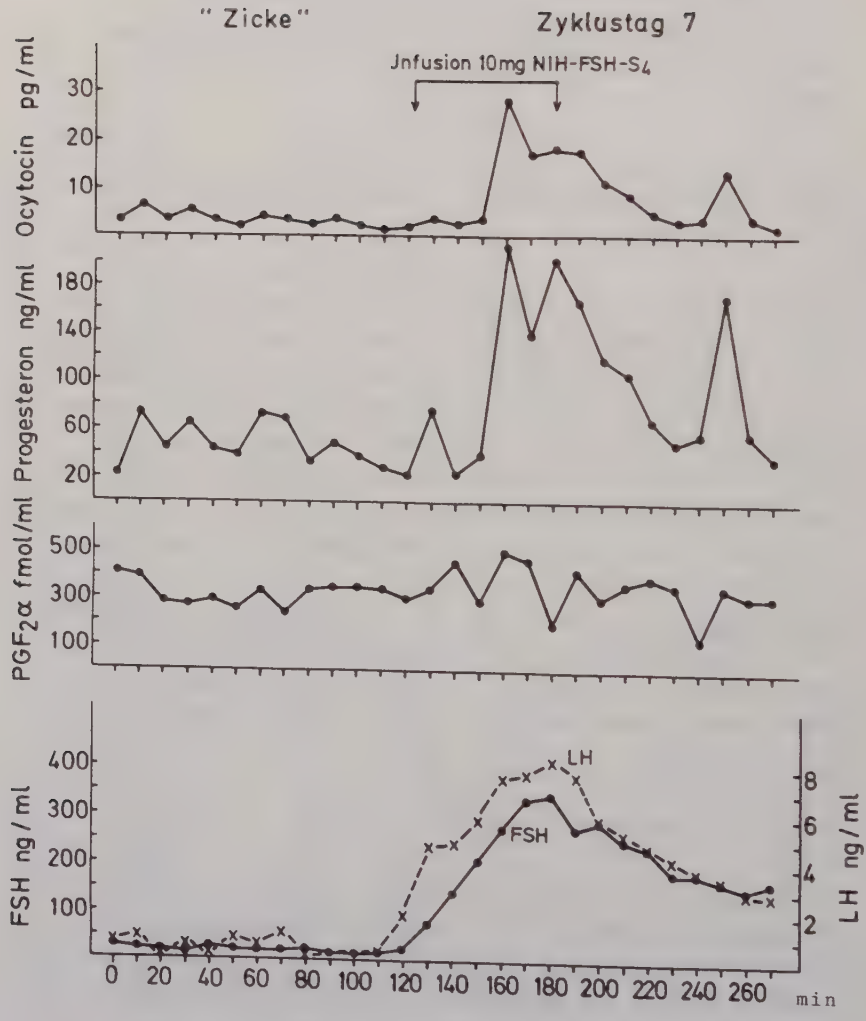


Abb. 36; Infusion eines FSH-Präparats an Zyklustag 7 (Zicke), Proben aus der Vena cava caudalis

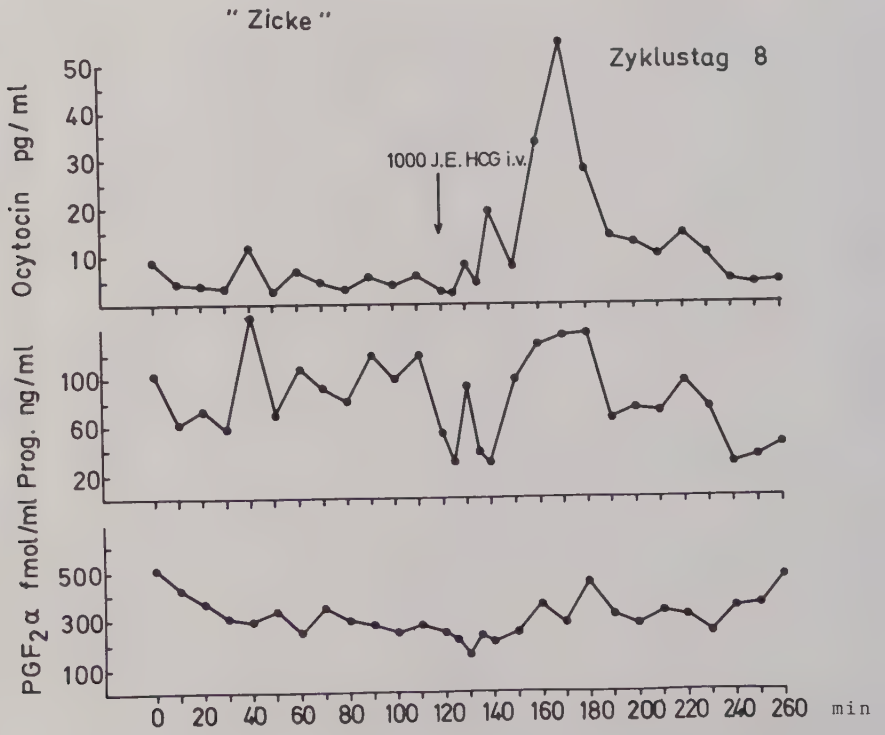


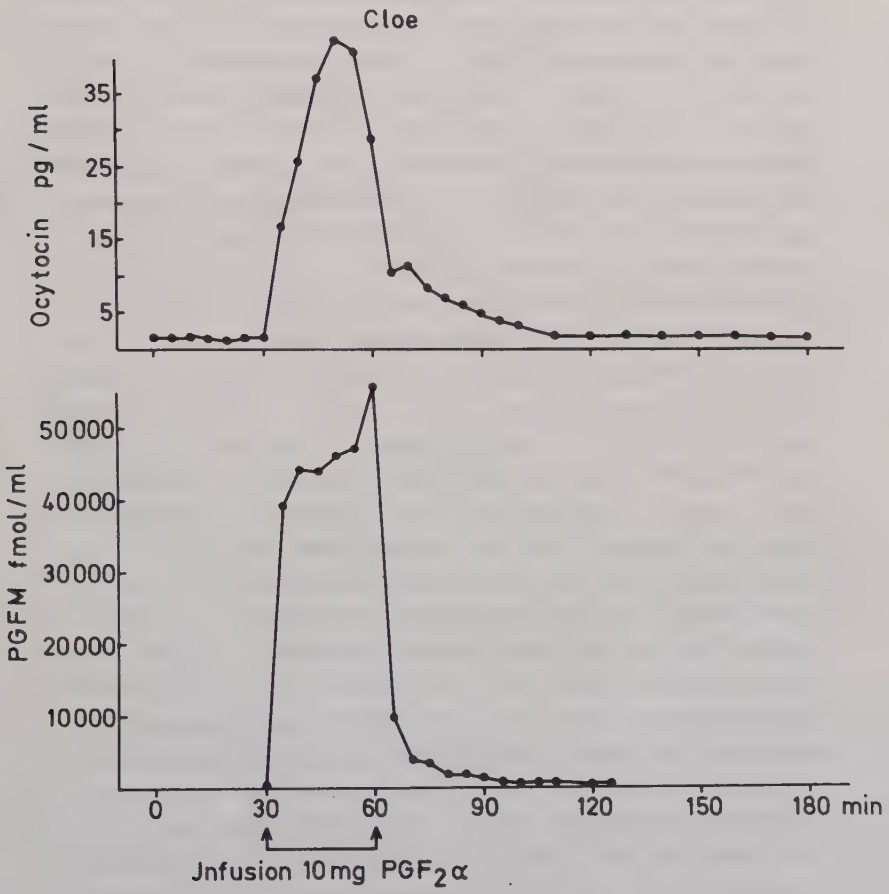
Abb. 37: Injektion von 1 000 I.E. HCG an Zyklustag 8 (Zicke)
Proben aus der Vena cava caudalis

die aber nicht über dem Spitzenwert der Kontrollphase liegt. Auf das $PGF_{2\alpha}$ wird kein signifikanter Einfluß sichtbar. In dieser Abbildung wird während der Kontrollphase nochmals das fast absolut synchrone Sekretionsverhalten von Progesteron und Ocytocin deutlich.

3.4.5. Wirkung von $PGF_{2\alpha}$ bei einem Corpus luteum persistens nach Hysterektomie

Dieser Versuch zeigt, daß $PGF_{2\alpha}$ (dessen physiologische Konzentration weit überschritten wurde) in der Lage ist, bei einem Corpus luteum persistens (am 35. Tag der Lutealphase) nach einer Hysterektomie nochmals Ocytocin in erheblichen Mengen freizusetzen. In der Ausgangsphase war Ocytocin nur noch um Basiswerte von 1,5 pg/ml zu messen; bis zum Ende der Infusion erfolgte ein Konzentrationsanstieg auf über 40 pg. Eine Stunde nach Infusionsende war wieder die Ausgangskonzentration erreicht.

Abb.38: Ocytocinwerte in der Aorta abdominalis nach Infusion von 10 mg $PGF_{2\alpha}$ am 35. Tag der Lutealphase bei einem Corpus luteum persistens



4. Diskussion

4.1. Diskussion der Methode

Tab. 4 zeigt Mittelwerte von Ocytocin-(mit Standardabweichungen) und Progesteronkonzentrationen in der Vena cava caudalis zu einer bestimmten Zyklusphase (um Tag6). Wie schon in einem früheren Abschnitt (3.2.1.1.) erwähnt, hängt es von der Position der Katheterspitze ab, ob die gezogene Blutprobe relativ viel Ovarblut erfaßt, oder ob bereits eine stärkere Verdünnung in der Vena cava caudalis stattgefunden hat. Man sieht hier deutlich, je besser die Katheterposition mit der Einmündungsstelle übereinstimmt, umso genauer wird der pulsatile Charakter der Hormonfreisetzung erfaßt (Eos).
Darüberhinaus wird deutlich, daß einzelne Proben zum Vergleich und zur Faktorberechnung nicht reichen. Wird z.B. zum Zeitpunkt eines Gipfels in der Vena cava caudalis Blut genommen (dieser Gipfel taucht in der Vena jugularis nicht auf, da eine Verdünnung stattfindet), dann errechnet sich ein relativ hoher Faktor, bei einem "Ausschüttungstal" erfolgt genau das Gegenteil. Da heißt, je näher der Katheter an der Einmündungsstelle sitzt, umso fragwürdiger wird die Berechnung des Faktors aus nur einer Parallelprobe (Beispiel "Eos", Tag 5 und 8, der Katheter wurde von außen nicht verlagert!). Erfaßt die Katheterspitze nicht mehr jede Schwankung, d. h. die Katheterspitze liegt etwas von der Einmündungsstelle entfernt, so steigt die Aussagekraft des Faktors über die Katheterposition wieder.Die absoluten Progesteronwerte und dieser Faktor, der lediglich angibt, um wieviel mal höher die Progesteronkonzentration in der Vena cava caudalis als in der Vena jugularis ist,sind insgesamt gesehen relativ wenig aussagekräftig für die Ocytocinkonzentrationen, da hier offensichtlich individuelle Freisetzungserscheinungen ziemliche Bedeutung haben.

So hat "Zicke" mit dem zweitschlechstesten Faktor die absolut niedrigste Ocytocinkonzentration in der Vena cava caudalis, bei Progesteron liegt sie mit einer absoluten Konzentration im Bereich von "Cloe", die einen fast doppelt so hohen Faktor und die 3,5-fache Ocytocinkonzentration aufweist.
Daß bei "Cloe" die Katheterspitze näher an der Einmündungsstelle der Vena ovarica liegt, geht aus den erheblichen Schwankungen bei der Ocytocinkonzentration von 12,0 pg mit einer Standardabweichung von $\pm$ 5,1 hervor, gegenüber "Zicke" 3,4 $\pm$ 1,1 pg/ml.
Dieses Beispiel zeigt, daß die absoluten Konzentrationen sowohl beim Ocytocin, als auch beim Progesteron individuell höchst verschieden und nicht voneinander abhängig sind. Denn bei "Lunte" zeigt sich das umgekehrte Verhältnis: bei relativ niedrigen Progesteronwerten und extrem schlechtem Faktor, beachtliche Ocytocinkonzentrationen; bei "Rolfi" mit leicht höheren Ocytocin-und Progesteronwerten, ein bedeutend besserer Faktor.
Ein deutlicher Ausdruck für eine exakte Postierung des Katheters an der Einmündungsstelle sind extreme Schwankungen in den gemessenen Konzentrationen.
So tritt bei "Eos" an Tag 5 bei einem Mittelwert (n=21) von 42,8 pg/ml Ocytocin mit einer Standardabweichung von $\pm$ 32,9 auf, was die Schwankungen bei den Konzentrationen zwischen der niedrigsten Probe (7,4 pg) und der höchsten (176 pg/ml) ausdrückt.

Tab.4 Vergleich der Ocytocin-und Progesteronwerte in der Vena cava caudalis um Zyklustag 6 bei 7 Tieren

Tier	Zykl. tag	Faktor*	OT $\bar{X}$ in v. cava	P_4 $\bar{X}$ in v. cava	Proben-anzahl
Zicke	6	3,5	3,4±1,1 pg/ml	43,4 ng/ml	7
Arche	6	5,2	6,3±1,0	11,4	12
Lunte	6	2,1	7,3±1,2	7,6(n=1)	12
Fee	6	7,2	14,8±1,5	16,9	24
Eos	5	19,5	42,8±32,9	112,9	24
	8	11,0	41,1±18,2	250,0	24
Cloe	7	6,6	12,0±5,1	44,8	24
Rolfi	5	6,2	8,3±1,1	7,0	21
	8	6,2	8,8±0,9	12,1	21

* Der Faktor für die Katheterposition drückt das Verhältnis der Progesteronkonzentration in der Vena cava caudalis zu der Progesteronkonzentration in der Peripherie (z.B. Vena jugularis externa) aus. Die Berechnung für diesen Faktor (f) erfolgt nach der Gleichung P_4 v.cava : P_4 v.jug. = f:1. Dabei wird von der Überlegung ausgegangen: Je näher die Katheterspitze an der Einmündungsstelle der Venae ovaricae liegt, umso konzentrierter an Progesteron ist die Blutprobe, also je höher der Faktor f, umso besser ist die Katheterposition (s. Abschnitte 3.2.1.1., 3.1.).

4.2. Diskussion der Ergebnisse

Die enge Beziehung zwischen Ocytocin und Zyklusstand wurde durch frequente Messungen zum Zeitpunkt der Lutealphase und gegen Zyklusende bestätigt und erweitert. Bei Kühen post partum erfolgt während der Phase der "Ovariellen Ruhe" zwischen Tag 4 und etwa Tag 10 - 12 p.p. ebenso wie bei weiblichen Kastraten eine permanente Basissekretion im Bereich von 1 - 2 pg/ml (im peripheren Blut gemessen) und dürfte daher hypophysären Ursprungs sein. Diese Basisisekretion ("background firing") erklärten LINCOLN und PAISLEY(1982) mit spontanen Entladungen einzelner Neuronen. In der präovulatorischen Phase des ersten Zyklus post partum konnte ein deutlicher Anstieg der Ocytocinsekretion ovariellen Ursprungs gezeigt werden. Auch wenn diese Ocytocinfreisetzung nicht das Niveau der Lutealphase erreicht, dürfte die Ocytocinfreisetzung aus dem Ovar auch in der präovulatorischen Phase außer Frage stehen.
Auf die enge Beziehung zwischen Ocytocinfreisetzung und funktionsfähigem Corpus luteum während des Zyklus haben SCHAMS et al. (1983 b) hingewiesen. Daß das Ocytocin in der präovulatorischen Phase eventuell aus dem entstehenden de Graaf'schen Follikel stammt, scheint auch die Tatsache zu belegen, daß 2 Tage post partum aus dem Ovar stammendes Ocytocin gemessen wird. Dieses Ocytocin könnte ebenfalls aus reifenden Tertiärfollikeln stammen, die bekanntlich perinatal auftreten. Es ist unwahrscheinlich, daß der Ursprung dieser Ocytocinsekretion im regressiven Corpus luteum graviditatis zu suchen ist, da schon während der Frühgravidität die Ocytocinsekretion eingestellt wird (MOORE et al. 1982).
Diese präovulatorische Ocytocinsekretion könnte ebenso aus Follikelstrukturen erfolgen, wie sie für die präovulatorische Progesteronsekretion beim Hund nachgewiesen wurde

(CONCANNON et al. 1977).
Die pulsatile Form der Ocytocinfreisetzung während der Lutealphase (WALTERS et al. 1982, SCHAMS et al. 1983b) konnte bestätigt werden,wobei die Anzahl der gemessenen Pulse und die Amplitudenhöhen von der Entfernung zwischen Ovar und Entnahmestelle abhängig erscheint. Der bei Schafen nachgewiesene Ocytocinanstieg parallel zum Progesteronanstieg (SHELDRICK und FLINT, 1981, SCHAMS et al.1982) wurde von BULLERMANN 1984 für das Rind bestätigt.
Dieser Anstieg der Ocytocinkonzentration geht mit einem niedrigen Prostaglandin-F Spiegel einher; erst am Zyklustag 12 erreicht die Prostaglandinsekretion ein höheres Niveau als in der ersten Zyklushälfte. Parallel hierzu kommt es zu diesem Zeitpunkt zu einem leichten Absinken der Ocytocinwerte, die dann um Tag 15 - 16 nochmals ansteigen, teilweise am Tag 17 einzelne höchste Pulse aufweisen und mit der Luteolyse, also mit dem Absinken der Progesteronkonzentration parallel zu den höchsten Prostaglandinfreisetzungen hochfrequent in beachtlichen Konzentrationen freigesetzt wurden.
Dies steht im Widerspruch zu den Erkenntnissen von WEBB et al. (1981) und BULLERMANN (1984), die parallel zur Luteolyse ein Absinken der Ocytocinkonzentrationen feststellten. Das dürfte seine Erklärung darin finden, daß zum einen in der Vena jugularis gemessen wurde, wo kurzfristige hohe Freisetzungen weniger erfaßt wurden, zum anderen ist denkbar, daß die Entnahmefrequenz nicht ausreichte, die Freisetzungen von Ocytocin während der Luteolyse zu erfassen.
Eine erhöhte Ocytocinsekretion in der Vena ovarica beim Schaf bzw. Vena cava caudalis beim Rind nach Prostaglandinanalogaapplikation, konnten FLINT und SHELDRICK (1982) bzw. SCHALLENBERGER et al. (1984) nachweisen.

So entsteht der Eindruck, daß in der ersten Hälfte des Zyklus Ocytocinfreisetzungen am Ingangkommen der Prostaglandinsekretion beteiligt sind; in der zweiten Hälfte, vor allem während der Luteolyse bewirkt Prostaglandin eventuell die Ocytocinfreisetzung. Ein Hinweis ist die ausgegesprochen synchrone Freisetzung der beiden Hormone während der Luteolyse. Einen weiteren Hinweis zeigt der Hysterektomie-Versuch: Nach Zyklusbeginn erfolgt eine physiologische Freisetzung von Ocytocin und Progesteron, die bis Tag 12 anhält; eine Prostaglandinsekretion kann nicht erfolgen , da der Uterus fehlt. Ohne die ansteigende Prostaglandinsekretion kommt es zu einem Absinken der Ocytocinwerte und parallel hierzu zu einem weiteren Progesteronanstieg und einem Corpus luteum persistens. Wird nach 35 Tagen der Lutealphase $PGF_{2\alpha}$ infundiert, kommt es zu massiven Ocytocinfreisetzungen. Daß Ocytocin in der ersten Zyklushälfte am Aufbau der Prostaglandinsekretion beteiligt ist, scheint die Verabreichung von spezifischen Antikörpern gegen Ocytocin zu zeigen. Bleibt die Ocytocinkonzentration auf einem niedrigen Niveau von etwa 2 pg/ml in den ersten Tagen des Zyklus, so erfolgt keine Erhöhung der Prostaglandinsekretion, es kommt zur Zyklusverlängerung, wie sie beim Schaf nach Immunisierung gegen Ocytocin schon gezeigt wurde (SHELDRICK et al. 1980, SCHAMS et al. 1983).

Nach SCHAMS et al. (1984) reichen geringfügige Ocytocinfreisetzungen von 3 - 5 pg/ml beim Rind zur normalen Milchejektion aus.

Offensichtlich reicht auch im Zyklus eine geringgradig höhere Ocytocinkonzentration aus, um ein Anlaufen der Prostaglandinsynthese zu bewirken. Danach kommt es zu einer physiologischen Zykluslänge, auch wenn in der Mittlutealphase die Ocytocinwerte wieder absinken. Das könnte auch die Erklärung dafür sein, daß bei Schafen auch nur

etwa die Hälfte mit Zyklusverlängerung reagierte (SCHAMS et al. 1983). Wobei es einfacher erscheint, die hohen Ocytocinkonzentrationen beim Schaf unter eine wirksame Grenze zu senken, als beim Rind mit relativ niedrigen peripheren Ocytocinwerten.
Daß bei dem einzigen Tier, das mit einer Zyklusverlängerung reagierte, es trotzdem 5 Tage später zur Lyteolyse kam, liegt eventuell darin begründet, daß der Ocytocin-Antikörper-Komplex sich ständig im Kreislauf befand. Es kam im Verlaufe des Zyklus dadurch zu einer Anreicherung. Da diese Ocytocin-Antikörper-Bindung nicht irreversibel ist, kam es eventuell zu einer erhöhten Abdissoziation von Ocytocin. Zu diesem Zeitpunkt, mit normalerweise hohen Östrogenspiegeln und dadurch hohen Ocytocinrezeptorzahlen im Endometrium (ROBERTS et al. 1976), kam es zu einer "überschießenden" Prostaglandinfreisetzung und Luteolyse.
Ein weiterer Hinweis darauf, daß geringe Ocytocinspiegel im Zyklus ausreichen, zeigt sich in den individuell sehr verschiedenen Niveaus der Ocytocinsekretion.
Prostaglandinanaloga setzen während der Lutealphase Ocytocin frei. Dieses Ocytocin kommt fast vollständig aus dem Ovar(SCHALLENBERGER et al. 1984), denn bei Kastraten konnte gezeigt werden, daß nur minimale Konzentrationserhöhungen von Ocytocin nach Cloprostenolapplikation gemessen werden. Eine deutlich höhere Ocytocinfreisetzung erfolgt, wenn der weibliche Kastrat zuvor mit Östradiol-17-ß behandelt wird. Wobei diese Ocytocinsekretion nicht das Niveau erreicht, das bei Injektionen von Cloprostenol während der Lutealphase erreicht wird.
Da dieses Tier nur ovarektomiert, nicht aber hysterektomiert war, kann eine Beteiligung des Uters nicht ausgeschlossen werden. Das Zusammenspiel zwischen Ocytocin und Prostaglandinen wurde auch bei Versuchen mit

Ocytocininjektionen deutlich. Erfolgt die Ocytocininjektion am Zyklusanfang (Tag 6), kommt es zu einem bedeutend geringeren Anstieg der Prostaglandinsekretion, als wenn die Injektion am Tag 12 oder am Zyklusende erfolgt. Diese Stimulation der Prostaglandinsynthese (MILVAE und HANSEL, 1980) ist wahrscheinlich nicht dosisabhängig, es zeigt sich eher eine stärkere Wirkung bei längerdauernden Ocytocinschüben. Eine Kumulation in der Wirkung bei mehrmaliger Ocytocininjektion ist nicht signifikant.
Die bei den Tastversuchen auftretenden Ocytocinfreisetzungen nach HCG-bzw. FSH-Infusion sind wahrscheinlich über den Anstieg der Progesteronsekretion zu betrachten (SCHALLENBERGER et al. 1982). Wie in den vorhergehenden Versuchen gezeigt wurde, ist in diesem Zyklusstadium (7. - 8. Tag) die Parallelität zwischen Ocytocin-und Progesteronausschüttung äußerst ausgeprägt.
Wenn auch nach diesen Versuchen noch nicht genau gesagt werden kann, welche Rolle im einzelnen Ocytocin während des Zyklus spielt und auf welche Art und Weise die Interaktionen der einzelnen Hormone zustande kommen, so spricht einiges für eine enge Beziehung zwischen Ocytocin und Prostaglandinen, die vor allem intraovariell (HANSEL und CONVEY, 1983) und im Uterus-Ovar-System abläuft. Aufschlußreich wäre sicherlich der Nachweis des Syntheseortes von Ocytocin im Ovar.
Momentan stellt sich der Kreislauf etwa so dar: Ocytocin spielt eventuell im Follikel schon eine Rolle; es bewirkt in der ersten Zyklushälfte eng gekoppelt mit der Progesteronsekretion eine Stimulation der Prostaglandinsynthese im Endometrium, dieses wiederum bewirkt gegen Ende der Lutealphase massive Ocytocinfreisetzungen im Ovar.
Diese Fragen zeigen zugleich die Grenzen der in diesen Versuchen angewendeten Methode der Blutgewinnung auf.

Zum einen wird, auch bei noch so optimaler Katheterposition an den Einmündungsstellen der Venae ovaricae, immer verdünntes Ovarblut gewonnen. Zum anderen erlauben es die unterschiedlichen Katheterpositionen meistens nicht, Vergleiche in den absoluten Konzentrationen anzustellen.
Nachdem die grundsätzlichen Fragen der ovariellen Sekretion geklärt werden konnten, erscheint derAufwand dieser Methode in Relation zum Informationsgewinn für weitere Versuche zu hoch. So führt eine geringe Katheterverlagerung zu eingeschränkten Aussagen. Ebenso sind kaum höhere Endzahlen an Beispielen zu realisieren, da permanent eine latente Infektionsgefahr über das offene Kreislaufsystem gegeben ist. Darüberhinaus werden in Blutproben nur Parameter gemessen, deren Aussagekraft für die Wirkungsorte Ovar und Uterus eingeschränkt ist. Um sich Modellvorstellungen über die Vorgänge vor allem im Ovar machen zu können (z.B. Wechselbeziehung zwischen Ocytocin, $PGF_{2\alpha}$, Steroiden oder Syntheseort für Ocytocin und eventuell $PGF_{2\alpha}$), sind invitro Versuche mit Gewebs-und Zellkulturen unerläßlich.

5. Zusammenfassung

Um die Sekretionsmuster von Ocytocin während des Zyklus und post partum zu erfassen, wurde mit Kalbinnen und primiparen Kühen 3 Hauptversuche und einige Nebenversuche mit frequenten Blutentnahmen durchgeführt. Die Ocytocinbestimmung erfolgte im Radioimmuntest mit einer vorgeschalteten Kartuschenextraktion (Nachweisgrenze 0,25 - 0,5 pg Ocytocin/ml Plasma). Die Blutproben entstammen vor allem der Vena cava caudalis, um ovarielle Ocytocinfreisetzungen zu erfassen. Darüberhinaus wurden für bestimmte Fragestellungen auch Proben aus der Aorta abdominalis und der Vena jugularis externa gewonnen.

Am 2. Tag post partum konnte ovarielles Ocytocin gemessen werden. Danach erfolgt eine niedrige Basissekretion, die offensichtlich der Hypophyse entstammt.
Wenige Tage vor der ersten Brunst kommt es erneut zu Freisetzungen von Ovarocytocin, die in der frühen Lutealphase drastisch ansteigen, mit einem Maximum zwischen Tag 8 und 10. Nach einem vorübergehenden leichten Absinken der Ocytocinkonzentration, kommt es um die Luteolyse zu massiven pulsatilen Ocytocinfreisetzungen, die synchron mit der Prostaglandinsekretion erfolgen. Während des Oestrus wurden die niedrigsten Ocytocinkonzentrationen gemessen.

Nach Hysterektomie post partum kommt es zu einem physiologischen Zyklusbeginn mit einer Ocytocinsekretion, die am 10. - 12. Tag nach der Brunst ihr Maximum erreicht, danach sinken die Ocytocinkonzentrationen bei Ausbildung eines Corpus luteum persistens auf unter 5 pg/ml ab. Diese Ocytocinfreisetzungen konnten am 35. Tag der Lutealphase nach Applikation von exogenem $PGF_{2\alpha}$ auf über 40 pg/ml erhöht werden.

Prostaglandinanaloga führen bei weiblichen Kastraten zu nur geringen Ocytocinfreisetzungen, die durch vorhergehende Östradiol-17-ß Applikation gesteigert werden können.
Spezifische Antikörper gegen Ocytocin, verabreicht an 5 Kalbinnen während eines Zyklus, führten bei 1 Tier zu einer Zyklusverlängerung von 5 Tagen. Bei dieser Kalbin blieb bei niedrigen Ocytocinspiegeln am Zyklusbeginn die Prostaglandinsekretion während des gesamten Zyklus gering.
Applikationen von 1 I.E. exogenem Ocytocin führen in der zweiten Zyklushälfte zu stärkeren Prostaglandinfreisetzungen als an Zyklustag 6.

Summary

Patterns of Ovarian Oxytocin-Secretion during Oestrous Cycle and after Hysterectomy and Experiments about the Effect of Antibodies against Oxytocin on the Oestrous Cycle of Cows.

Blood samples were taken frequently from the vena cava caudalis from heifers to monitor the patterns of ovarian oxytocin secretion during the oestrous cycle and the early post partum period. In 7 heifers, four of them were hysterectomized, catheters were inserted into the aorta abdominalis and cava caudalis immediately after parturition to get acces to the ovarian and uterine blood supply and drainage. In some other experiments blood samples were taken from the jugularvein.
Oxytocin was determined by a radioimmunoassay with extraction by C_{18}-cartridges (the limit of assay-sensitivity was 0,25 - 0,5 pg/ml plasma).
Results are as follows: Oxytocin secretion increased during the early luteal phase. Highest concentrations were found at day 8 - 10 of the cycle. During midluteal phase most of the oxytocin pulses occured concomitantly with pulses of progesterone. During luteolysis exceptional high oxytocin pulses were found parallel to prostaglandin pulses. After luteolysis oxytocin concentrations decreased to very low values.
An increase of ovarian oxytocin was measured for few days after parturition and decreased afterwards to concentrations similar wones measured in the jugular vein. Luteal function started between days 11 - 15 p.p. Fews day before oestrous cycle starts again, an increase of ovarian oxytocin was noticed.

After hysterectomy post partum the oestrous cycle started normally with an increase of ovarian oxytocin secretion until the midluteal phase and vanished after about two weeks of luteal function contrary to progesterone. After application of $PGF_{2\alpha}$ at day 35 of still existing luteal function oxytocin secretion increased from lower than 5 pg/ml to more than 40 pg/ml measured within the aorta.

Five heifers were passively immunizid against oxytocin. One of them showed prolongation of oestrous cycle lenght for about five days. This animal exhibited the lowest oxytocin and prostaglandin concentrations during the cycle.

Injections ofa prostaglandin analogue in ovariectomized heifers were followed only by a minute increase of oxytocin values in the jugular vein (contrary to intact animals bearing a c.l.) and was supposed to be of pituitary orgin.

The effect of exogenous oxytocin injections on prostaglandin secretion was during early luteal phase lower than in the later oestrous cycle and indicated an interaction of oxytocin and prostaglandin secretion.

6. Literurverzeichnis

ACHER, R. (1962)
The comparative chemistry of neurohypophysial hormones.
Symp. zool. Soc. London 9, 83 - 91

ADAMSON, K., ENGEL; S.L. und VAN DYKE, H.B. (1958)
Stabilility of neurohypophysial hormones.
Endocrinology , 63, 679 - 687

ANDERSON, L.L., BOWERMAN, A.M., und MELAMPY, R.M. (1965)
Effect of oxytocin on ovarian function in cycling hysterectomized heifers.
J. Anim. Sci. 24, 964 - 968

ARMSTRONG, D.T. und HANSEL, W. (1959)
Alteration of the bovine estrous cycle with oxytocin
J. Dairy Sci. 42, 533 - 542

AROSKAR, J.P., CHAN, W.Y., STOUFFER, J.E., SCHNEIDER, C.H., MURTI, V.V.S. und DU VIGNEAUD, V. (1964)
Renal excretion and tissue distribution of radioactivity after administration of tritium-labeled ocxtocin to rats.
Endocrinology 74, 226 - 232

AULETTA, F.J., CURRIE, G.N. and BLACK, D.L. (1972)
Effect of oxytocin and adrenergic drugs on bovine reproduction.
Acta endocrin. 69, 241 - 248

AULSEBROOK, L.H. und HOLLAND, R.C. (1969)
Central regulation of oxytocin release with and without vasopressin release.
Am. J. Physiol. 216, 830 - 842

BARCIKOWSKI, B., CARLSON, J.C., WILSON, L. und McCRACKEN; J.A. (1974)
The effect of endogenous and exogenous estradiol-17-ß on the release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ from the ovine uterus.
Endocrinology 95, 1340 - 1349

BARGMANN, W. (1949)
Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse.
Z.Zellforsch. 34, 255 - 259

BARGMANN, W. (1957)
Raltionship between neurohypophyseal structure and function.
In: The Neurohypohysis, Ed. Heller, pp 11 - 22
Butterworths Scientific Publ. London, 1957

BARGMANN, W. (1958)
Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Neurohypophyse
In: 2. Internationales Symposium über Neurosekretion, Lund 1957, pp 4 - 12, Springer Verlag, Berlin 1958

BAUMANN, G. (1980)
Einfluß von Paarungsverhalten und Stimulation der Genitalorgane auf die Freisetzung von Ocytocin beim Rind.
Med. Vet. Dissertation, München

BELL, W.B. (1909)
The pituitary body and the therapeutic value of the infundibular extract in shock, uterine atony and intestinal paresis.
Brit. Med. J. 1, 1609 - 1613

BELL, W.B. und HICK, P. (1909)
Observations on the physiology of the female genital organs.
Brit. Med. J. 1, 777 - 783

BINDLER, E., LABELLA, F. und SANWAL, M. (1967)
Isolated nerve endings from posteroir pituitary.
J. Cell Biol. 34, 185 - 205

BICKNELL, R.J. und LENG, G. (1982)
Endogenous opiates regulate oxytocin but not vasopressin secretion from the neurohypophysis.
Nature 298, 161 - 162

BISSET, G.W., HILTON, S.M. und POISNER, A.M. (1967)
Hypothalamic pathways for independant release of vasopressin and oxytocin.
Proc. Roy. Soc. Biol. Scri., B, 166, 422 - 442

BLACK, D.L. und DUBY, R.T. (1965)
Effect of oxytocin, epinephrin and atropin on the estrous cycle of the cow.
J. Reprod. Fertil. 9, 3 - 8

BOISSONNAS, R.A., GUTTMANN, S., JAQUENOUD, P.A. und WALLER, J.P. (1955)
Une nouvelle synthèse de l'oxytocine
Helv. chim. Acta 38, 1491 - 1501

BREMEL, R.D. und SHAW, M.E. (1978)
Actomyosin from mammary myoepithelial cells and phosphorylation by myosin light chain kinase.
J. Dairy Sci. 61, 1561 - 1566

BRUNNER, M.A., DONALDSON, L.E. und HANSEL, W. (1969)
Exogenous hormones and lutealfunction in hysterectomized and intact heifers.
J. Dairy Sci. 52, 1849

BULLERMANN, B. (1984)
Zyklusabhängige Ocytocin-Freisetzung beim Rind unter besonderer Berücksichtigung der ovariellen Sekretion.
Dissertation med. vet. München

BUDDECKE, E. (1977)
Grundriß der Biochemie, 5. Auflage
Berlin, New York: de Gruyter

CALDWELL. B.V., TILLSON, S.A., BROCK, W.A. und SPEROFF, L. (1972)
The effects of exogenous progesterone and estradiol on prostaglandin F levels in ovarectomized ewes.
Prostaglandins, 1, 217 - 228

CAMEROUN, N.und FOSGATE, W. (1964)
The influence of oxytocin upon the reproductive tract of the lactating bovine.
J.Dairy sci. 47, 79 - 81

CARLSON, J. und BLACK, D.L. (1969)
Oxytocin-produced changes in the bovine ovary before and after unilateral ovarectomy.
J. Reprod. Fert. 20, 39 - 43

CHAN, W.Y. (1977)
Relationship between the utertonic action of oxytocin and prostaglandins: oxytocin action and release of PG- activity in isolated nonpregnant and pregnant rat uteri.
Biolog. Reprod. 17, 541 - 548

CHAN, W.Y., NESTOR, J.J.Jr., FERGER, M.F. und DU VIGNEAUD, V. (1974)
Inhibition of oxytocic response of oxytocin in pregnant rats by (1-L-Penicillamine) oxytocin and (1-ß-mercapto-ß, ß-diethyl-propionic acid) oxytocin.
Prod. Soc. Exp. Biol. Med. 146, 364 - 366

CLARKE, G., WOOD, P., MERRICK, L. und LINCOLN, D.W.(1979)
Opiate inhibition of peptide release from the neuro-humoral terminals of hypothalamic neurons.
Nature 282, 746 - 748

COBO, E. (1973)
Effect of different doses of ethanol on the milkejecting reflex in lactating women.
Am. J. Obstet. Gyn. 115, 817 - 821

CONCANNON, P.W., HANSEL, W., and McENTEE,K . (1977)
Changes in LH, Progesteron an Sexual Behaviour Associated with Preovulatory Luteinization in the Bitch.
Bid. Reprod. 17, 604 - 613

COOKE, R.G., und HOMEIDA, A.M. (1982)
Concentrations of 13, 14-dihydro-15-keto-$PGF_{2\alpha}$ and progesterone in plasma during estrous, induced by oxytocin in gilts.
Theriogenolgy 18, N. .4, 453 - 460

COOKE, R.G. und KNIFTON, A. (1981)
Oxytocin-induced estrous in gilts.
Theriogenology 16, No. 1, 95 - 97

CRANKSHAW, D.J., BRANDO, L.A. und DANIEL,E.E. (1978)
Localisation of the oxytocin receptor in the plasma membran of rat myometrium.
Euro. J. Biochem. 86, 481 - 486

CROWLEY, W.R., O'DOOHUE , T.L., GEORGE, J.M. und JAKOBOWITZ, D.M. (1978)
Changes in pituitary oxytocin and vasopressin during the estrous cycle and afterovarian hormones: evidence for mediation by norepinephrin.
Life Science 23, 2579 - 2586

DALE, H.H. (1906)
On some physiological actions of ergot
J. Physiol. London 34, 165 - 206

DALE, H.H. (1909)
The action of extracts of the pituitary body.
Biochem. J. 4, 427 - 447

DAX, E.M. und JOHNSTON, C.I. (1978)
The destribution of neurophysins and posterior pituitary hormones in the porcine neurohypophyseal system.
J. Neurochem. 31, 853 - 860

DOBROWOLSKSY, W. (1973)
The effects of oxytocin on the duration of ovine estrous in breeding and anestrous season.
Polskie Archiwum Wetery naryjne 16, 4, 649 - 654

DÖCKE, F. (1962)
Untersuchungen zur Uteruskontraktilität beim Rind.
Arch. Exp. Vet. Med. 16, 1205 - 1305

DONALDSON, L.E. (1969)
Effects of continued daily injections of oxytocin on estrous cycle lenght and reproductive tract. morphology in the cow.
J. Reprod. Fertil. 18, 259 - 263

DONALDSON, L.E., BASSET, J.M. und THORBURN, G.D. (1970)
Peripheral plasma progesterone concentration of cows during puberty, estrous cycle, pregnancy and lactation, and the effects of undernutrition of exogenous oxytocin on progesterone concentration.
J. Endocrin. 38, 599 - 614

DONALSON, L.E. und TAKKEN, A. (1968)
The effect of exogenous oxytocin on corpus luteum function in the cow.
J. Reprod. Fert. 17, 373 - 383

DOUGLAS, W.W. (1963)
A possible mechanism of neurosecretion - release of vasopressin by depolarisation and its dependence on calcium
Nature, 197, 81 - 82

DREIFUSS, J.J., GRAU, J.D. und NORDMANN, J.J. (1973)
Effects on the isolatet nerohypophysis of agents which affect the membran permeability to calcium.
J. Physiol., London 231, 96 - 98

DREIFUSS, J.J. TRIBOLLET, E. und MÜHLENTHALER, M. (1981)
Temporal patterns of neural, activity and their relation to the secretion of posterior pituitary hormones.
Biol. Reprod. 24, 51 - 72

DU VIGNEAUD, V., RESSLER, C., SWAN, J.M., ROBERTS, W. und KASTOYANNIS, P.G. (1954)
The synthesis of oxytocin.
J.Am. chem. soc. 76, 3115 - 3121

DU VIGNEAUD, V. RESSLER, C. und TRIPETT, S. (1953)
The sequence of amino acids in oxytocin, with a proposal for rhe structure of oxytocin.
J. Biol. Chem. 205, 949 - 957

ELLENDORF, F., FORSLING, M.L., PARVIZI, N., SMIDT, D. TAVERNE, M. und WILLIAMS, H. (1978)
Prostaglandin $F_{2\alpha}$ administration and oxytocin release in the pig and miniatur pig.
Brit. J. Pharmacol. 62, 412

ELLENDORF, F., FORSLING, M., PARVIZI, N., WILLIAMS, H., TAVERNE, M. und SMIDT, D. (1979)
Plasma oxytocin and vasopressin concentrations in response to prostaglandin injection into the pig.
J. Reprod. Fert. 56, 573 - 577

FABIAN, M. (1970)
The Metabolism of Neurohypophyseal Hormones in Mammals.
Ph. D. thesis, London: Univ. of London, Charing Cros Hosp. Med. School

FABIAN, M., FORSLING, M.L., JONES,J.J. und LEE, J. (1969)
The release, clearance and plasma protein binding of oxytocin in the anaesthetized rat.
J. Endocrin. 43, 175 - 189

FAIRCLOUGH, R.J., SMITH, J.F., McGOWAN, J.E. (1981)
Prolongation of the oestruscycle in cows and ewes after passive immunization with PGF antibodies.
J. Reprod. Fert. 62, 213 - 219

FEKETE, K. (1930)
Beiträge zur Physiologie der Gravidität.
Endokrinologie 7, 364 - 369

FERGUSON, J.K.W. (1941)
A study of the motility of the intact uterus at term.
Surg. Gynec. Obstet. 73, 359 - 366

FITZPATRICK, R.J. und WAMSLEY, C.F. (1965)
The release of oxytocin during parturation.
In: Advances in oxytocin research, Ed. J.J.M. Pinkerton,
pp 51 - 73, Pergamon Press, Oxford

FLINT, A.P.F., FORSLING, M.L., MITCHELL, M.D. und
TURNBULL, A.C. (1975)
Temporal relationship between changes in oxytocin and
prostaglandin F levels in response to vaginal distension
in the pregnant and puerperal ewe.
J. Reprod. Fert. 43, 551 - 554

FLINT, A.P.F. und SHELDRICK, E.L. (1982)
Ovarian secretion of oxytocin is stimulated by
prostaglandin.
Nature, 297, 587 - 588

FOGES, A. und HOFSTÄTTER, R. (1910)
Über Pituitrinwirkung bei post-partum Blutungen
Zentr. Gynaekol. 34, 1500 - 1504

FRANKL-HOCHWART, L. von und FRÖHLICH, A. (1909)
Zur Kenntnis der Wirkung des Hypophysins auf das
sympathische und autonome Nervensystem.
Wie. Klin. Wochschr. 22, 982 - 983

FUCHS, A.R. und WAGNER, G. (1963)
Effect of alcohol on release of oxytocin
Nature, 198, 92 - 94

GEORGE, J.M., STAPLES, S. und MARKS, B.M. (1976)
Oxytocin content of microdissected areas of rat hypothalamus.
Endocrinology 98, 1430 - 1433

GILLESSPIE, A., BRUMMER, I. und CHARD, T. (1972)
Oxytocin release by infused prostaglandin.
Br. Med. i, 543 - 544

GINTHER, O.J., WOODY, C.O., MAHAJAN, S., JANAKIRAMAN, K. und CASIDA, L.E. (1967)
Effect of oxytocin administration on the oestrus cycle unilaterally hysterectomized heifers.
J.Reprod. Fert. 14, 225 - 229

HANSEL, W. (1959)
Further studies on the regulation of the bovine estrous cycle by oxytocin injections.
J. Dairy sci. 42, 940 - 941

HANSEL, W. und WAGNER, W.C. (1960)
Luteal inhibition in the bovine as a result of oxytocin injections, uterine dilatation and intrauterine infusions of seminal and preputial fluid.
J. Dairy Sci. 43, 796 - 805

HANSEL, W. und CONVEY, E.M. (1983)
Physiology of the Estrous Cycle.
J. Amin. Sci. Vo. 57, Supp. 2

HARMS, P.G. und MALVEN, P.V. (1969)
Modification of bovine luteal function by exogenous oxytocin and progesterone.
J. Amin.Sci. 29, 25 - 29

HATJIMINAOGLOU, I., ALIFAKOTIS, T. und ZERVAS, N. (1979)
The effect of exogenous oxytocin on estrous cycle lenght and corpus luteum lysis in ewes.
Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys. 19, 355 - 363

HELLER, H. (1957)
The state and cocentrations of the neurohypohysical hormones in the blood.
Ciba Found. Collg. Endocrinol. 11, 3 - 14

HIXON, J.E. und HANSEL, W. (1974)
Evidence for preferential transfer of prostaglandin $F_{2\alpha}$ to the ovarian artery following intrauterine administration to cattle.
Biol. Reprod. 11, 543

HEIDRICH, H.J., (1955)
Zur Amputatio uteri beim Rind.
Berl. Münch. Tierärzt. Wschr. 68, 183 - 185

HOFBAUER, J. (1911)
Hypophysenextrakt als Wehenmittel.
Zentr. Gynaekol. 35, 137 - 141

HOFFMANN, B., KYREIN, H.J. und ENDER, M.L. (1973)
An efficient procedure for the determination of progesterone by radioimmunassay applied to bovine peripheral plasma.
Hormone Research 4, 302 - 310

HOLLENBERG, M.D. und HOPE, D.P. (1968)
The isolation of the native hormone-binding proteine from bovine pituitary posterior lobes.
Biochem. J. 106, 557 - 564

HOPPE, R., KARCZEWSKI, W. und JEDRUCH, J. (1969)
The effect of oxytocin on the oestrus cycle and fertility in heifers and cows.
Medy. Weter.25, 165 - 167

IMBERT, M., JARD, S. und MOREL, F. (1970)
Evolution dans le temps de la concentration plasmatique et de l'excrétion rénale de radioactivité après injection intraveineus d'oxytocine tritiée chez le rat.
J. Physiol., Paris 58, Supp.1 167 - 168

IUPAC - IUB Commission on Biochemical Nomenclature (1975)
The nomenclature of peptide hormones. Recomendations,1974
Eur. J. Biochem. 55, 485 - 486

KAMM, O. ALDRICH, T.B., GROTE, T.W., ROWE, L.W. und BUGBEE, E.P. (1928)
The active principles of the posterior lobe of the pituitary gland.
J. Amer. Chem. Soc. 50, 135 - 142

KARLSON, P. (1980)
Kurzes Lehrbuch der Biochemie.
Georg Thieme Verlag Stuttgart

KMENT, A. (1976)
Endokrinium
In: Lehrbuch der Veterinärphysiologie Hrsg. A. Scheunert und A. Trautmann, pp 33 - 90,
Verlag Paul Parey Berlin Hamburg

KNOCHE, H. (1979)
Endokrine Drüsen 320 - 330
In: Lehrbuch der Histologie
Springer Verlag Berlin Heidelberg New York

KOIDA, M. , GLASS, J.D., SCHWARTZ, I.L. und
WALTER, R. (1971)
Mechanism of inactivation of oxytocin by rat kidney enzymes.
Endocrinology 88, 633 - 643

LANDGRAF, R., SCHULZ, J., EULENBERGER, K. and
WILHELM, J. (1983)
Plasma levels of oxytocin and vasopressin before, during and after parturition in cows.
Exp. Clin. Endocrinol. Vol 81, No. 3, 321 - 328

LEGROS, J.I., REYNAERT, R. und PEETERS, G. (1974)
Specific release of bovine neurophysin I during milking and suckling in the cow.
J. Endocr. 60, 327 - 332

LEGROS, J.I., REYNAERT, R. und PEETERS, G. (1975)
Specific release of bovine neurophysin II during arterial or venous haemorrage in the cow.
J. Endocr. 67, 297 - 302

LEGROS, J.J. (1978)
The radioimmunassay of neurophysins as a tool for posterior pituitary investigation.
Biochem. Pharm. 27, 1009 - 1018

LEDERIS, K. (1961)
Vasopressin and oxytocin in mammalian hypothalamus.
Gen. comp. Endocr. 1, 80 - 89

LHABETSWAR, A.P., COLLINS, W.E., TYLER, W.J. und CASIDA, L.E. (1964)
Effect of progesterone and oxytocin on the pituitary-ovarian relationship in heifers.
J. Reprod. Fert. 8, 77 - 83

LINCOLN, D.W. und RENFREE, M.B. (1981)
Milk ejection in a marsupial, Macropus agilis.
Nature. Lond. 289,504 - 506

LINCOLN, D.W. und PAISLEY, A.C. (1982)
Neuroendocrine control of milk ejektion.
J. Reprod. Fert. 65, 571 - 586

LIVERMOORE, A.H. und DU VIGNEAUD, V. (1949)
Preparation of high potency oxytocic material by the use of countercurrent distribution.
J. Biol. Chem. 180, 365 - 373

McCRACKEN, J.A. (1980)
Hormone receptor control of prostaglandin $F_{2\alpha}$ secretion by the ovine uterus.
Adv. in Prostagl. and Thrombox. Res., Vol. 8 edited by B. Samuelsson, P.W. Ramwell and R. Paoletti; Raven Press., New York 1329 - 1344

MILVAE, R.A. und HANSEL, W. (1980)
Concurrent uterine venous and ovarian arterial prostaglandin F concentrations in heifers treated with oxytocin.
J.Reprod. Fert. 60, 7 - 15

MITCHELL, M.D., FLINT, A.P.F. und TURNBULL, A.C. (1975a)
Stimulation by oxytocin of prostaglandin F levels in uterine venous effluent in pregnant and puerperal sheep.
Prostaglandins 9, 47 - 56

MITCHELL, M.D., FLINT, A.P.F. und TURNBULL, A.C. (1975b)
Effect of oxytocin on plasma prostaglandin F levels in the pregnant and post-partum ewe.
Proceed. of the Soc. for Endocr. 16

MITCHELL, M.D., FLINT, A.P.F. und TURNBULL, A.C. (1977)
Increasing uterine response to vaginal distension during late pregnancy in sheep.
J. Reprod. Fert. 49, 35 - 40

MITCHELL, M.D., KRAEMER, D.L., BRENNECKE, S. und WEBB, R. (1982)
Pulsatile release of oxytocin during the estrus cycle, pregnancy and parturition in sheep.
Biol. Reprod. 27, 1169 - 1173

MOORE, L.G. und WATKINS, W.B. (1979)
Purification and radioimmunassay of sheep neurophysins.
Proc. NZ Endocr. Soc. Abst. 3

MOORE, L.G. and WATKINS, W.B. (1982)
Embryonic suppression of oxytocin-associated neurophysin release in early pregnant sheep.
Prostaglandins Vol. 24 No. 1, 79

NEELEY, D.P., STABENFELDT, G.H. und SAUTER, C. (1979)
The effect of exogenous oxytocin on luteal function in mares.
J. Reprod. Fert. 55, 303 - 308

NEWCOMB, R., BOOTH, W.D. und ROWSON, L.E. (1977)
The effect of oxytocin treatment on the levels of prostaglandin F in the blood of heifers.
J. Reprod. Fert. 49, 17 - 24

NISSENSON, R., FLOURET, G. und HECHTER, O. (1978)
Opposing effects of estradiol and progesterone on oxytocin rceptors in rabbit uterus.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 75, 2044 - 2048

OLIVER, G., SCHÄFER, E.A. (1895)
On the physiological action of extracts of pituitary body and certain other glandular organs.
J. Physiol. (London) 18, 227 - 279

OLIVECRONA, H. (1957)
Paraventricular nucleus and pituitary gland.
Acta Physiol., Scand. Suppl. 136, 1 - 178

OTT, T. und SCOTT, J.C. (1909)
The actions of glandular extracts upon the contractions of the uterus.
J. Exptl. Med. 11, 326 - 330

OTT, T. und SCOTT, J.C. (1910)
The action of infundibulin upon the mammary secretion.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 8, 48 - 49

PRILUSKY, J. und DEIS, R.P. (1976)
Inhibitory effect of prostaglandin $F_{2\alpha}$ on oxytocin release and on milk ejection in lactating rats.
J. Endocr. 69, 395 - 399

RAISMAN, G. (1973)
Electron microscopic studies of the development of new neurohaemal contacts in the median eminence of the rat after hypophysectomy.
Brain. Res. 55, 245 - 261

RECHARD, L. (1969)
Electron microscopic and histochemical observations on the supraotpic nucleus of normal and dehydrated rats.
Acta Physiol. Scand. 329, 1 - 79

RIGOR, E.M. und CLEMENTE, R.R. (1964)
The effects of oxytocin injections on the oestrus cycle of gilts.
5. Congt. intern. reprod. anim., Trento, Vol. 3, 364-366

ROBERTS; J.S. (1975)
Cyclical fluctuations in reflexive oxytocin release during the estrous cycle of the goat.
Biol. Reprod. 13, 314 - 317

ROBERTS, J.S. und McCRACKEN, J.A. (1976)
Does prostaglandin $F_{2\alpha}$ released from the uterus by oxytocin mediate the oxytocic action of oxytocin?
Biol. Reprod. 15, 457 - 463

ROBERTS, J.S., BARCIKOWSKI, B., WILSON, L., SKARNES, R.C. und McCRACKEN, J.A. (1975)
Hormonal and related factors affecting the release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ from the uterus.
J. Steroid.Biochem. 6, 1091 - 1097

ROBERTS, J.S., McCRACKEN, J.A., GAVAG AN J.E. und SOLOFF, M.S. (1976)

Oxytocin-stimulatet release of prostaglandin $F_{2\alpha}$ from ovine endometrium in vitro: Correlation with estrus cycle and oxytocin receptor binding.
Endocrinology 99, 1107 - 1114

ROBERTS, J.S. und SHARE, L. (1968)
Oxytocin in plasma of pregnant, lactating and cycling ewes during vaginal stimulation.
Endocrinology 83, 272 - 278

ROBERTS, J.S. und SHARE, L. (1969)
Effects of progesterone and estrogen on blood levels of oxytocin during vaginal distension.
Endocrinology 84, 1076 - 1081

ROBERTS, J.S. und SHARE, L. (1970)
Inhibition by pogesterone of oxytocin secretion during vaginal stimulation.
Endocrinology 87, 812 - 815

ROBINSON, A.G., ZIMMERMANN, R.A. und FRANTZ, A.G. (1971)
Physiologie investigations of posterior pituitary binding proteins neurophysin I und neurophysin II.
Metab. Clin. Exp. 20, 1148 - 1155

RODGERS, R.J. et al. (1982)
Animal Physiol. Abstr. 26,. 18

ROSENBERGER, G., DIRKSEN, G., GRÜNDER, H.-D., STÖBER, M. (1978)
Krankheiten des Rindes.
Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg

RÜSSE, M. (1968)
Zur vegetativen Regulation des Myometriums.
Z. Tierz. Züchtungsbiol. 84, 307 - 318

RÜSSE, M.(1979)
Physiopathology of parturition.
In: Physiology and control of parturition in domestic animals.
F. Ellendorff, M. Taverne und D.Smidt (Eds.)
pp 149 - 154
Elsevier, Amsterdam - Oxford - New York

ROSSIER, J., BATTENBERG, E., PITTMAN, O., BAYON, A., KODA, L., MILLER, R., GUILLEMIN, R. und BLOOM, F.E. (1979)
Hypothalamic enkephalin neurones may regulate the neurohypophysis.
Nature 277, 653 - 655

ROCA, R.A., GARÓFALO, E.G., MARTINO, I., PÍRIZ, H., RIEPPIG, G., MARAFF, M., OHAHIAN, C., and GADOLA,L.(1978)
Effects of Oxytocin Antiserum and of Indomethacin on HCG-Induced Ovulation in the Rabbit.
Biol. of Reprod. 19, 552 - 557

SCHAMS, D., und KARG, H. (1980)
Hormonal responses following treatment with different luteolytic active prostaglandin-analogues for estrous cycle regulation in cattle.
Proceedings of the Intern. Symposium "Steroids in animal Production" 27-30 April 1980;
Warschau, edt. Henry Jasiorowski, 95

SCHAMS, D., LAHLOU-KASSI, A. und GLATZEL, P. (1981)
Oxytocin concentrations in peripheral blood during the estrous cycle and after ovariectomy in two breeds of sheep with low and high fecunditiy.
Acta Endocr. Copenh. Suppl. 240, 96, 49 - 50 Abstract

SCHAMS, D., SCHMIDT-POLEX, B. und KRUSE, V. (1979)
Oxytocin determination by radioimmunassay in cattle.
Acta Endocr. 92, 258 - 270

SCHAMS, D., PROKOPP, A. (1979)
Oxytocin determination by RIA in cows around parturition.
In: Physiology and control of parturition in domestic animals
F. Ellendorff , M.Taverne and D.Smidt (EDS.)
pp 267 - 270
Elsevier, Amsterdam - Oxford - New York

SCHAMS, D., LAHLOU-KASSI, A. und GLATZEL, P. (1982)
Oxytocin concentrations in peripheral blood during the estrous cycle and after ovariectomy in two breeds of sheep with low and high fecudity.
J. Endocrin. 92, 9 - 13

SCHAMS, D., PROKOPP, A. und BARTH, D. (1983a)
The effect of active and passive immunization agains oxytocin on ovarian cyclicity in ewes.
Acta Endocrinology 103, 337 - 344

SCHAMS, D., WALTERS, D.L., SCHALLENBERGER, E., BULLERMANN, B. und KARG, H. (1983b)
Ovarian oxytocin in the cow.
Acta Endocr. Copenh., Supp. 253 Abstr. 164

SCHAMS, D. (1983)
Oxytocin determination by radioimmunassay. III. Improvement to subpicogram sensitivity and application to cyclic blood levels in cattle.
Acta Endocr. Copenh. 103, 180 - 183

SCHAMS, D., BAUMANN, G. und LEIDL, W. (1982)
Oxytocin determination by radioimmunassay in cattle II. Effect of mating and stimulation of genital tract in bulls, cows and heifers.
Acta Enocr. 99, 218 - 223

SCHAMS, D., MAYER, H., PROKOPP, A. and WORSTORFF, H.(1984)
Oxytocin secretion during milking.
J. Endocrin. (in press)

SCHALLENBERGER, E., SCHAMS, D., BULLERMANN, B. und WALTERS, D.L. (1984)
Pulsatile secretion of gonatropins, ovarian sreroids and ovarian oxytocin during prostaglandin induced regression of corpus lureum in the cow.
J. Reprod. Fert. (in press)

SCHALLENBERGER, E., WALTERS, D.L., OERTERER, U. und SCHÖNDORFER, A.M. (1982)
Is the pulsatile secretion of progesterone during the oestrous cycle of the cow related to the pulsatile release of LH and FSH?
In: Proc. of Annual Conf. of the Soc. for the Study of Fertility July 13-16, 1982 University of Nottingham, Sutton Bonington S. 15

SCHARRER, E. und SCHARRER, B. (1954)
Hormones produced by neurosecretory cells.
Recent Progr. Horm. Res. 10, 183 - 240

SHARMA, S.C. und FITZPATRICK, R.J. (1974)
Effect of oestradiol-17-ß and ocytocin treatment on prostaglandin $F_{2\alpha}$ release in the anoestrous ewe.
Prostaglandins 6, 97 - 105

SCHÖNDORFER, A.M. (1982)
Untersuchungen über den Einfluß pulsatiler Gonadotropinfreisetzungen auf die Progesteronsekretion beim Rind.
Dissertation med. vet. München

SHELDRICK, E.L. und FLINT, A.P.F. (1981)
Circulating concentrations of oxytocin during the estrous cycle and early pregnancy in sheep.
Prostaglandins 22, 631 - 636

SHELDRICK, E.L., MITCHELL, M.D. und FLINT, A.P.F.(1980)
Delayed luteal regression in ewes immunized against oxytocin.
J. Reprod. Fert. 59, 37 - 42

SIMMONS, K.R. und HANSEL, W. (1964)
The nature of the luteotropic hormone in the bovine.
J. Anim. Sci. 23, 136 - 141

SMALL, M.G.P., GAVAGAN , J.E. und ROBERTS, J.S. (1978)
Oxytocin-stimulated production of prostaglandin $F_{2\alpha}$ by isolated endometrium of rabbit: modulation by ovarian steroids.
Prostaglandins 15, 103 - 112

SMITH, D.G. (1967)
Carbamylation of amino and tyrosin hydroxyl groups. Preparation of an inhibitor of oxytocin with no intrinsic activity on the isolated uterus.
J. Biol. Chem. 242, 1579 - 1591

SOKOL, H.W. und VALTIN, H. (1967)
Evidence for the synthesis of oxytocin and vasopressin in separate neurons.
Nature 214, 314 - 316

SOLOFF, M.S. (1979)
Minireview: Regulation of oxytocin action at the receptor level.
Life Science 25, 1453 - 1460

SOLOFF, M.S. (1982)
Oxytocin receptors and mammary myoepithelial cells.
J. Dairy sci. 65, 326 - 337

SCHUMMER, A.,WILKENS, H., VOLLMERHAUS, B., HABERMEHL, K.H. (1976)
In: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere
von Nickel, R., SCHUMMER, A., SEIFERLE, E. Band III
Verlag Paul Parey Berlin und Hamburg, 267

SAWYER, W.H. (1961)
Neurohypophysial hormones.
Pharmacological reviews 13, 225 - 227

STAPLES, R.E., McENTEE, K. und HANSEL, W. (1961)
Luteal function as related to pituitary and ovarian cytology and embryo development in the bovine.
J. Dairy Sci. 44, 2049 - 2057

STEHLE, R.L. und FRASER, A.M. (1935)
The purification of pressor and oxytocic hormones of the pituitary gland and some observations on the chemistry of the products.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 55, 136 - 151

STORMSHAK, F., KELLY, H.E. und HAWK, H.W. (1969)
Surpression of ovine luteal function by 17-ß-estradiol
J. Anim. Sci. 29, 476 - 478

THORPE, W.V. (1926)
Experimtents on the chemical nature of the oxytocic principle of the pituitary gland.
Biochem. J.20, 374 - 378

TUPPY, H. (1953)
The amino acid sequence in oxytocin.
Biochem. Biophys. Acta (Amst.) 11, 449 - 450

UTTENTHAL, L.O. und HOPE, D.B. (1970)
The isolation of three neurophysins from porcine posterior pituitary lobes.
Biochem. J. 116, 899 - 909

VALTIN, H. (1967)
Hereditary hypothalamic diabetes insipidus in rats (Brattleboro strain). A useful experimental model.
Am. J. Med. 42, 814 - 827

VALTIN, H., SAWYER, W.H. und SOKOL, H.M. (1965)
Neurohypophysial principles in rats homozygous and heterozygous for hypothalamic diabetes insipidus (Brattleboro strain).
Endocrinology 77, 701 - 705

VANDESANDE, F., DIERICKX, K. und DE MEY, J. (1974)
Identification of the vasopressin-neurophysin II and the oxytocin-neurophysin I producing neurons in the bovine hypothalamus.
Cell. Tiss. Res. 156, 189 - 200

VANDESANDE, F. und DIERICKX, K. (1975)
Identification of the vasopressin-producing and of the oxytocin-producing neurons in the hypothalamic magnocellular system of the rat.
Cell. Tiss. Res. 164, 153 - 162

VAN DONGEN, C.G. und HAYS, R.L. (1966)
Oxytocic activity in unextracted blood plasma during calving.
J. Reprod. Fert. 11, 317 . 323

WAGNER, G. und FUCHS, A.-R. (1968)
Effect of ethanol on uterine activity during suckling in post-partum women.
Acta Endocr. 58, 133 - 141

WAKERLEY, J.B. und LINCOLN, D.W. (1973)
Unit activity in the supraoptic nucleus during reflex milk ejection.
J.Endocrin., 59, XLVI-XLVII

WALTER, R. und SHLANK, H. (1971)
In vivo inactivation of oxytocin.
Endocrinology, 89, 990 - 995

WALTER, R. und SHLANK, H. (1975)
Difference in the enzymatic inactivation of arginine vasopressin and oxytocin by rat kidney homogenate.
Endocrinology 96, 811 - 814

WALTERS, D.L., SCHAMS, D. und SCHALLENBERGER, E. (1982)
Pulsatile secretion of gonadotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin in the cow.
J. Steroid Biochem. 17: XC, 1982 (Abstract)

WALTERS, D.L., SCHAMS, D. und SCHALLENBERGER, E. (1984)
Pulsatile secretion of gandotropins, ovarian steroids and ovarian oxytocin during the luteal phase of the oestrous cycle in the cow.
J. Reprod. Fert. 71, (in press)

WALTERS, D.L., SCHALLENBERGER, E. (1983)
Kurzzeit Sekretion von Östradiol-17-ß und Progesteron beim Rind - Vergleich der Konzentration im Blutplasma der Vena cava und Vena jugularis.
Wien Tierärztl. Monatsschr. 70, 247 - 248

WATHES, D.C. und SWANN, R.W. (1982)
Is oxytocin an ovarian hormone?
Nature 297, 225 - 227

WATHES, D.C., SWANN R.W., BIRKETT, S.D., PORTER, D.G. und PICKERING, B.T. (1983)
Characterization of Oxytocin, Vasopressin and Neurophysin from the Bovine Corpus Lureum.
Endocrinology 113, 693 - 698

WEBB,R., MITCHELL, M.D., FALCONER, J. und ROBINSON, J.S. (1981)
Temporal relationship between peripheral plasma concentrations of oxytocin, progesterone and 13,14-dihydroprostaglandin $F_{2\alpha}$ during the oestrus cycle and early pregnancy in the ewe.
Prostaglandins 22, No. 3, 443 - 453

WEISS, L.,LÖFFLER, G., PETRIDES, P.E., (1975)
Hormone in: Physiologische Chemie.
Hrsg. Harper, H.A., Löffler, G., Petrides, P.E., Weiss,L.
Springer Verlag Berlin Heidelberg New York

WHALLEY, E.T.(1978)
The action of bradykinin and oxytocin on the isolated whole uterus and myometrium of the rat in oestrus
Brit. J. Pharmacol. 64, 21 - 28

YAMAGUCHI, K., AKAISHI, T. und NEGORO, H. (1979)
Effect of estrogen treatment on plasma oxytocin and vasopressin in ovariectomized rats.
Endocrinol. Japan. 26, 197 - 205

ZEROBIN, K. (1976)
Physiologie der Fortpflanzung.
In: Lehrbuch der Veterinärphysiologie
Hrsg: A.Scheunert und A. Trautmann
pp 710 - 768; Paul Parey Verlag Berlin und Hamburg

ZIMMERMANN, E.A., HSU, K.C., ROBINSON, A.G., CARMEL, P.W. und TANNENBAUM, M.(1973)
Studies of neurophysin secreting neurons with immunoperoxidase techniques empolying antibody to bovine neurophysin.
I.Light microscopic findings in monkey and bovine tissues.
Endocrinology 92, 931 - 940

ZIMMERMANN, E.A., ROBINSON, A.G., HUSAIN,M.K., ACOSTA, M., FRANTZ, A.G. und SAWYER, W.H. (1974)
Neurophysial peptides in the bovine hypothalamus: In the ralationship of neurophysin I to oxytocin, and neurophysin II to vasopressin in supraoptic and paraventricular regions.
Endocrinology 95, 931 - 936

Bei Herrn Professor Dr. Karg möchte ich mich für die Überlassung des Themas bedanken.
Für die zahlreichen Anregungen und Ratschläge bin ich Herrn Professor Dr. Schams dankbar.
Ganz besonders danke ich auch Herrn Dr. Schallenberger und Herrn Prokopp für ihr Engagement bei den Versuchen.
Am Institut gilt mein Dank vor allem Inge, Elisabeth, Kurt und nicht zuletzt Herrn Oberpriller für die tatkräftige Unterstützung.
Darüberhinaus bedanke ich mich bei allen, die in irgendeiner Form an dieser Arbeit beteiligt waren.

LEBENSLAUF

Name:	Hansjörg Breitinger
geboren:	am 25. Mai 1953 in Bühlenhausen Alb-Donau-Kreis
Eltern:	Christian Breitinger, Landwirt in Bühlenhausen Rosa, geb. Werner

Schulischer und beruflicher Werdegang

1960-1964	Grundschule in Berghülen
1964-1969	Progymnasium in Laichingen, Mittlere Reife
1969-1972	Wirtschaftsgymnasium in Ulm, Allgemeine Hochschulreife
SS 1973 bis SS 1976	Studium an der Pädagogischen Hochschule in Reutlingen für das Lehramt an Grund- und Hauptschule in den Fächern Mathematik und Sport
Oktober 1976-September 1977	Kraftfahrer bei der Magirus Deutz AG in Ulm
WS 1977/78	Beginn des Studiums der Tiermedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität München
November 1982	Staatsexamen
Dezember 1982	Approbation als Tierarzt
Januar 1983 -. Dezember 1983	Wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Physiologie der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft Weihenstephan der TU München. Während dieser Zeit Anfertigung der vorliegenden Dissertation.